PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5 : C07K 7/56, 7/64, A61K 37/24 — A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 92/06998

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 30. April 1992 (30.04.92)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP91/01934

(22) Internationales Anmeldedatum: 10. Oktober 1991 (10.10.91)

(30) Prioritätsdaten:

P 40 32 268.8	11. Oktober 1990 (11.10.90)	DE
P 40 32 269.6	11. Oktober 1990 (11.10.90)	DE
P 40 32 271.8	11. Oktober 1990 (11.10.90)	DE
P 41 17 733.9	30. Mai 1991 (30.05.91)	DE

(71) Anmelder *(nur für AU CA GB)*: BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH [DE/DE]; Postfach 200, D-6507 Ingelheim am Rhein (DE).

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser AU CA GB US)*: BOEHRINGER INGELHEIM KG [DE/DE]; Postfach 200, D-6507 Ingelheim am Rhein (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)* : SCHNORRENBERG, Gerd [DE/DE]; Ernst-Ludwig-Str. 66a, D-6535 Gau-Algesheim (DE). PALLUK, Rainer [DE/DE]; Talstraße 24, D-6507 Ingelheim am Rhein (DE). HEINRICHS, Stefan [DE/DE]; Wilhelmshöherstr. 38, D-6000 Frankfurt/Main 60 (DE).

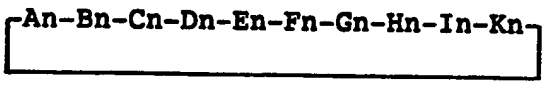
(74) Gemeinsamer Vertreter: BOEHRINGER INGELHEIM KG; Postfach 200, D-6507 Ingelheim am Rhein (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), AU, BE (europäisches Patent), CA, CH (europäisches Patent), CS, DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FI, FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), HU, IT (europäisches Patent), JP, KR, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), NO, PL, SE (europäisches Patent), SU+,US.

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: CYCLOPEPTIDES, A METHOD OF PREPARING THEM, AND THEIR USE AS DRUGS

(54) Bezeichnung: CYCLOPEPTIDE, VERFAHREN ZU IHRER HERSTELLUNG UND IHRE VERWENDUNG ALS ARZNEIMITTEL



(I)

(57) Abstract

The invention concerns cyclopeptides of general formula (I), and their salts, in which the amino-acid units An to Kn are as defined in the description. The invention also concerns the preparation and the use of such cyclopeptides. The new compounds are ANP-agonistic.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft Cyclopeptide der allgemeinen Formel (I) und deren Salze, worin die Aminosäurereste An bis Kn die in der Beschreibung angegebenen Bedeutungen besitzen sowie deren Herstellung und Verwendung. Die neuen Verbindungen sind ANP-Agonisten.

+ Siehe Rückseite

+ BESTIMMUNGEN DER "SU"

Die Bestimmung der "SU" hat Wirkung in der Russischen Föderation. Es ist noch nicht bekannt, ob solche Bestimmungen in anderen Staaten der ehemaligen Sowjetunion Wirkung haben.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	ML	Mali
AU	Australien	FI	Finnland	MN	Mongolei
BB	Barbados	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BE	Belgien	GA	Gabon	MW	Malawi
BF	Burkina Faso	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BG	Bulgarien	GN	Guinea	NO	Norwegen
BJ	Benin	GR	Griechenland	PL	Polen
BR	Brasilien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU+	Soviet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		

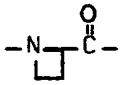
Cyclopeptide, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als Arzneimittel

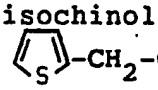
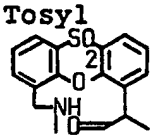
Die Erfindung betrifft neue Cyclopeptide, die aus natürlichen und unnatürlichen Aminosäureresten aufgebaut sind, deren Herstellung und deren Verwendung als Arzneimittel. Die Peptide sind ANP-Agonisten.

Die neuen Cyclopeptide stellen Partialsequenzen, diskontinuierlich miteinander verknüpfte Partialsequenzen, modifizierte Partialsequenzen und Analoga des sogenannten "Atrialen Natriuretischen Faktors", ANF, oder "Atrialen Natriuretischen Peptids", ANP, dar.

ANP wird hauptsächlich in den Muskelzellen der Herzvorhöfe synthetisiert, dort auch als Prohormon gespeichert und durch den mechanischen Reiz erhöhter Wandspannung freigesetzt. Es wirkt gefäßrelaxierend, blutdrucksenkend, diuretisch und saluretisch, erhöht die glomeruläre Filtration, reduziert das Plasmavolumen und erhöht den Hämatokrit, senkt die Plasma-Reninaktivität und den Plasma-Aldosteronspiegel, wirkt spasmolytisch an der glatten Muskulatur des Darmes und broncholytisch. Die Wirkung wird über spezifische Rezeptoren vermittelt.

Die in dieser Beschreibung und den Ansprüchen verwendeten Abkürzungen folgen den Empfehlungen von IUPAC-IUB Joint Commission of Biochemical Nomenclature (Eur. J. Biochem. 138, 9-37 (1984). Einige andere Abkürzungen sind ergänzt worden. Es werden nachstehend einige dieser Abkürzungen angegeben:

Aund	ω-Aminoundekansäure
Abut	γ-Aminobuttersäure
Aoc	ω-Aminooctansäure
Apen	δ-Aminopentansäure
Aca	ε-Aminocapronsäure
Aib	α-Aminoisobuttersäure
Ala	Alanin
ßAla	ß-Alanin
Arg	Arginin
Asp	Asparaginsäure
Azt	
Bum	tert-Butyloxymethyl
BOC	tert-Butyloxycarbonyl
Btu	3-Amino-1-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on
Bzl	Benzyl
Bz	Benzoyl
Cha	Cyclohexylalanin
Cle	Cycloleucin
Clg	3-Amino-1-carboxymethyl-hexahydro-azepin-2-on
Ctr	Citrullin
Dap	2,3-L-Diaminopropionsäure
DMF	N,N-Dimethylformamid
DPPA	Diphenylphosphorylazid
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DIC	Diisopropylcarbodiimid
Gly	Glycin
His	Histidin
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
Ile	Isoleucin
Leu	Leucin
Lys	Lysin

Menoc	Menthyloxycarbonyl
Me	Methyl
Met	Methionin
Mtr	4-Methoxy-2,3,6-trimethylphenylsulfonyl
Nal	1-Naphthylalanin
Nle	$CH_3-(CH_2)_2-CH(NH_2)-COOH$
Orn	Ornitin
Phe	Phenylalanin
Pmc	Pentamethylchromansulfonyl
Ser	Serin
Thc	3-Amino-7-carboxy-tetrahydro-isochinolin-1-on
Thi	
Tos	Tosyl
Trc	
Trt	Trityl
Tyr	Tyrosin
Val	Valin
Z	Benzyloxycarbonyl

Der Ausdruck Aminosäure umfaßt (falls im folgenden Text nicht ausdrücklich etwas anderes angegeben ist) natürliche und unnatürliche Aminosäuren, sowohl der D- als auch der L-Form. Ferner umfaßt der Ausdruck "α-Aminosäure" auch α, α-disubstituierte Aminosäuren.

Wenn eine Aminosäure ohne Präfix angegeben ist (z.B. Orn) steht diese Angabe für die L-Form der Aminosäure. Die D-Form wird ausdrücklich angegeben (z.B. D-Orn).

Die Erfindung betrifft Cyclopeptide der allgemeinen Formel I mit ANP agonistischer Wirkung,

-An-Bn-Cn-Dn-En-Fn-Gn-Hn-In-Kn- (I)

worin die Folge der Glieder Bn bis Kn die Folge von Aminosäureresten des hANP
-Arg(27)-Phe(8)-Gly(9)-Gly(10)-Arg(11)-
Met(12)-Asp(13)-Arg(14)-Ile(15)- oder deren raumstrukturellen und funktionellen Äquivalenten ist und An eine Spacergruppe ist, die Bn mit Kn verbindet und die Raumstruktur des jeweiligen Moleküls dahingehend beeinflußt, daß die Cyclopeptide an ANP Rezeptoren binden, und deren pharmazeutisch annehmbare Salze.

Cyclopeptide sind bevorzugt, worin die Spacergruppe An in dem dem Glied Bn zunächstliegenden Teil einen aromatischen oder cycloaliphatischen Rest enthält.

Die meisten Aminosäurereste können in der D- oder L-Form vorliegen. Cyclopeptide, worin die Glieder oder die Mehrheit der Glieder Bn, Cn, En, Fn, Gn, Hn, In und Kn in der L-Form vorliegen, sind bevorzugt.

Die Spacergruppe An hält die α-C-Atome der Glieder Bn und Kn in einem Abstand von 5 bis 15 Ångstrom. (Konformationen aus 2D-NMR-Messung in wäßriger Lösung, Ergebnisse als Randbedingungen für Molekül-Dynamik-Simulation).

An bindet nicht an ANP-Rezeptoren, beeinflußt jedoch die Rezeptorbindungsfähigkeit und somit die pharmakologische Wirkung der Cyclopeptide der allgemeinen Formel I.

Unter raumstrukturellen und funktionellen Äquivalenten der Aminosäurereste des ANP werden Aminosäurereste beziehungsweise Peptidtemplate (sowohl der L-Form als auch der D-Form) verstanden, die bewirken, daß die Cyclopeptide der allgemeinen Formel I an ANP-Rezeptoren binden. Die bisherigen Untersuchungen haben gezeigt, daß z.B. die Folge (Bn bis Kn) -Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile- sehr gute Rezeptorbindungswerte und pharmakologische Wirkungen ergibt. Die einzelnen Glieder der Folge sind durch Reste ähnlicher Raumstruktur und/oder Funktion ersetzbar, wobei die Rezeptorbindungsfähigkeit des Cyclopeptides mehr oder weniger beeinflußt wird und der Grad und in manchen Fällen die Art der pharmakologischen Wirkung innerhalb der bekannten ANP-agonistischen Wirkung verändert wird. Durch die Variation der einzelnen Glieder ist somit die Art, Höhe und Dauer der pharmakologischen Wirkung beeinflußbar. Werden mehr als eines der Glieder Bn bis Kn variiert, dann setzt sich nach dem bisherigen Kenntnisstand die Änderung der pharmakologischen Eigenschaften aus den Änderungen der entsprechenden Einzelvariationen zusammen. Die folgende Zusammenstellung zeigt anhand strukturell ähnlicher Beispiele den Zusammenhang zwischen Rezeptorbindungsfähigkeit und Folge der Glieder der Cyclopeptide der allgemeinen Formel I. (Testbeschreibung ist weiter unten im Text beschrieben: "Bindung an ANP-Rezeptoren").

Die mit *) gekennzeichneten Verbindungen besitzen einen IC_{50}-Wert in dem genannten ANP-Rezeptorbindungstest von kleiner als 5.10^{-8} Mol, die anderen Verbindungen besitzen eine geringere Affinität.

A*) ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

B*) ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-D-Arg-Ile

C ßAla-Phe-D-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-D-Arg-Ile

D*) Z-Dap-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

E H-Dap-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

G*) ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

H*) ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-D-Arg-Ile

I ßAla-Phe-D-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-D-Arg-Ile

K*) ßAla-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

L ßAla-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Wie bereits oben erwähnt worden ist, umfaßt der Ausdruck Aminosäure natürliche und unnatürliche Aminosäuren. Zweckmäßig sind die unnatürlichen Aminosäuren, sofern nicht ausdrücklich engere Angaben gemacht werden, in Bezug auf ihr Molekulargewicht bzw. die Länge der Seitenketten, in der Größenordnung der natürlichen Aminosäuren.

Als Salze kommen insbesondere solche mit physiologisch verträglichen anorganischen oder organischen Säuren, wie z.B. HCl, HBr, H_2SO_4, H_3PO_4, Maleinsäure, Fumarsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Essigsäure in Frage.

Die Chiralitätszentren in den neuen Peptiden können jeweils R-, S- oder R,S-Konfiguration besitzen.

Die Glieder Bn, Fn und In entsprechen dem Arg (27), Arg (11) beziehungsweise Arg (14) von ANP oder deren raumstrukturellen und funktionellen Äquivalenten. Bn, Fn und In können unabhängig voneinander α-Aminosäurereste mit zwei basischen Seitenketten oder vorzugsweise einer basischen Seitenkette sein. Unter basischer Seitenkette wird hier vorzugsweise eine Alkyl- oder Cycloalkylseitenkette verstanden, die 1 bis 4 (vorzugsweise 1 oder 2) basische Gruppen enthält. Geeignete basische Gruppen sind z. B. -NH-, =NH, $-NH_2$, $-HN-C(NH)-NH_2$, $-C(NH)-NH_2$. Vorzugsweise ist wenigstens eine der basischen Gruppen der jeweiligen Seitenkette eine zweizähnige basische Gruppe. Ferner sind Seitenketten bevorzugt, deren erste basische Gruppe mit dem δ-Kohlenstoffatom der α-Aminosäure verbunden ist oder mit einem Kohlenstoffatom, das noch weiter von dem Backbone des Peptids entfernt ist. Bevorzugt sind Alkylseitenketten mit 1-6, insbesondere 3 oder 4 Kohlenstoffatomen und Cycloalkylseitenketten $-(CH_2)_x-$ (CA) $-(CH_2)_y-$, worin x und y unabhängig voneinander 0, 1 oder 2 sind und (CA) für Cycloalkyl mit 5 oder 6 Kohlenstoffatomen steht. Bevorzugt steht die basische Gruppe am Ende der Seitenkette.

Das Glied Cn entspricht wie oben erwähnt Phe (8) des ANP oder dessen strukturellen und funktionellen Äquivalenten. Cn kann ein α-Aminosäurerest mit zwei lipophilen Seitenketten oder vorzugsweise einer lipophilen Seitenkette sein. Unter lipophiler Seitenkette wird an dieser Position eine Alkylseitenkettemit 1 bis 7 C-Atomen (vorzugsweise 1 bis 4 C-Atomen, insbesondere mit 1 C-Atom) verstanden. Diese Alkylseitenkette kann eine oder zwei Oxygruppe(n) (-O-), Thiogruppe(n) (-S-) oder -C(O)O-Gruppe(n) enthalten. Diese Alkylseitenkette trägt einen oder zwei Rest(e). Diese Reste sind unabhängig voneinander cycloaliphatische oder aromatische Reste. Der cycloaliphatische Rest (vorzugsweise Cycloalkylrest) enthält 3 bis 10, vorzugsweise 4 bis 7, Kohlenstoffatome. Der aromatische Rest ist vorzugsweise Phenyl, Naphthyl,

substituiertes (z.B. durch NO_2, Hydroxy, Phenyl(C_{1-4})alkyloxy oder C_1-C_4 Alkoxy) Phenyl oder ein 5- oder 6-gliedriger eventuell auch benzokondensierter aromatischer Heterocyclus, worin 2 Glieder N sind oder ein Glied N und ein Glied O oder S ist, oder ein Glied N, S oder O ist und die übrigen Glieder C sind, vorzugsweise Thienyl, Furyl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Pyrazolyl, Pyridyl, Pyrazinyl, Pyrimidinyl, Pyridazinyl, Indolyl, Isoquinolyl, Quinolyl, Chromanyl, Thiazolyl, Oxazolyl, Morpholinyl.

Die Glieder Dn und En entsprechen wie erwähnt Gly (9) beziehungsweise Gly (10) des ANP oder deren raumstrukturellen und funktionellen Äquivalenten.

Dn und En können unabhängig voneinander Gly oder einen α-Aminosäurerest, der die Raumstruktur der nativen Aminosäure (Gly) nachahmt, bedeuten oder Dn und En können gemeinsam einen ω-Aminosäurerest $-NH(CH_2)_{2-11}-CO-$ oder ein Peptidtemplat bedeuten. An den Positionen Dn und En sind vorzugsweise Aminosäurereste geeignet, die nach den statistischen Analysen von Chou und Fasman (Biophysical Journal, Volume 26, 1979, 367-383) in ß-turn-Konformationen häufig zu finden sind. Hervorzuheben sind z.B. die Aminosäuren, die in den Positionen i+1 und i+2 mit erhöhter Häufigkeit auftreten, insbesondere solche mit einer Häufigkeit ab 0,06 (Tabelle 1 der genannten Veröffentlichung).

Unter geeigneten Peptidtemplaten sind solche hervorzuheben, die ß-turn-immitierende Konformation haben.

Die Glieder Gn und Kn entsprechen, wie oben erwähnt worden ist, Met (12) beziehungsweise Ile (15) von ANP oder deren raumstrukturellen und funktionellen

Äquivalenten. Gn und Kn können unabhängig voneinander α-Aminosäurereste mit je zwei lipophilen Seitenketten oder vorzugsweise einer lipophilen Seitenkette sein. Unter lipophiler Seitenkette wird an diesen Positionen vorzugsweise eine Alkylseitenkette mit 1 bis 10 C-Atomen, vorzugsweise 1 bis 6 C-Atomen, insbesondere solche mit mindestens 3 C-Atomen verstanden. Diese Alkylseitenkette kann zusätzlich 1 oder 2 Oxygruppe(n) (-O-) oder Thiogruppe(n) (-S-) (wie beispielsweise in Methionin) enthalten. Diese Seitenkette kann auch 1 bis 2 Alkylreste enthalten.

Das Glied Hn entspricht wie oben erwähnt dem Asp (13) von ANP oder dessen raumstrukturellen und funktionellen Äquivalenten. Das Glied wirkt als Spacer. Hn kann ein α-Aminosäurerest sein, nämlich Gly oder ein Rest, der in der Seitenkette keine funktionelle Gruppe trägt oder -COOH und/oder $-CONH_2$. Vorzugsweise ist die Seitenkette eine Alkylseitenkette mit 1 bis 6 (vorzugsweise 1-3) Kohlenstoffatomen, die auch eine Phenylgruppe tragen kann und/oder $HOOC(CH_2)_{1-4}$ oder $H_2N-CO(CH_2)_{1-4}-$.

An steht, wie oben beschrieben worden ist, für eine Spacergruppe. Diese Gruppe kann

a) die Gruppe $-A_1-A_2-A_3-$
b) die Gruppe $-A_4-A_5-$
c) ein Aminosäurerest der Formel III
$-NH-(CH_2)_m-CH(R)-CO-$ (III)
sein.

A_1 kann Gly oder ein α-Aminosäurerest mit zwei Seitenketten oder vorzugsweise einer Seitenkette sein. Diese Seitenketten tragen keine funktionellen Gruppen. Vorzugsweise ist eine solche Seitenkette eine verzweigte oder unverzweigte Alkylseitenkette mit 1 - 6 Kohlenstoffatomen.

A_2 ist eine kovalente Bindung oder ein ω-Aminosäurerest der Formel II,

$-NH-(CH_2)_n-CO-$ (II)

worin n eine ganze Zahl von 1 bis 11 (vorzugsweise 1 bis 6) ist.

A_3 kann ein α-Aminosäurerest mit zwei lipophilen Seitenketten oder vorzugsweise einer lipophilen Seitenkette sein. Unter lipophiler Seitenkette wird an dieser Position eine Alkylseitenkette mit 1 bis 7 C-Atomen (vorzugsweise 1 bis 4 C-Atomen, insbesondere mit 1 C-Atom) verstanden. Diese Alkylseitenkette kann eine oder zwei Oxygruppe(n) (-O-), Thiogruppe(n) (-S-) oder -C(O)O-Gruppe(n) enthalten. Diese Alkylseitenkette trägt einen oder zwei Rest(e). Diese Reste sind unabhängig voneinander cycloaliphatische oder aromatische Reste. Der cycloaliphatische Rest (vorzugsweise Cycloalkylrest) enthält 3 bis 10, vorzugsweise 4 bis 7, Kohlenstoffatome. Der aromatische Rest ist vorzugsweise Phenyl, Naphthyl, substituiertes (z.B. durch NO_2, Hydroxy, Phenyl(C_{1-4})-alkyloxy oder C_1-C_4 Alkoxy) Phenyl oder ein 5- oder 6-gliedriger eventuell auch benzokondensierter aromatischer Heterocyclus, worin 2 Glieder N sind oder ein Glied N und ein Glied O oder S ist, oder ein Glied N, S oder O ist und die übrigen Glieder C sind, vorzugsweise Thienyl, Furyl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Pyrazolyl, Pyridyl, Pyrazinyl, Pyrimidinyl, Pyridazinyl, Indolyl, Isoquinolyl, Quinolyl, Chromanyl, Thiazolyl, Oxazolyl, Morpholinyl.

A_4 kann ein Peptidtemplat oder ein ω-Aminosäurerest der Formel

$$- NH - (CH_2)_n - CO - \qquad (II)$$

sein, worin n eine ganze Zahl von 1 bis 11 (vorzugsweise 1 bis 6) ist;

Unter den Begriff Peptidtemplat fallen Gruppen wie beispielsweise Clg, Btu, Thc und Trc.

A_5 kann eine kovalente Bindung oder ein α-Aminosäurerest mit zwei lipophilen Seitenketten oder vorzugsweise einer lipophilen Seitenkette sein. Unter lipophiler Seitenkette wird an dieser Position eine Alkylseitenkette mit 1 bis 7 C-Atomen (vorzugsweise 1 bis 4 C-Atomen, insbesondere mit 1 C-Atom) verstanden. Diese Alkylseitenkette kann eine oder zwei Oxygruppe(n) (-O-), Thiogruppe(n) (-S-) oder -C(O)O-Gruppe(n) enthalten. Diese Alkylseitenkette trägt einen oder zwei Rest(e). Diese Reste sind unabhängig voneinander cycloaliphatische oder aromatische Reste. Der cycloaliphatische Rest (vorzugsweise Cycloalkylrest) enthält 3 bis 10, vorzugsweise 4 bis 7, Kohlenstoffatome. Der aromatische Rest ist vorzugsweise Phenyl, Naphthyl, substituiertes (z.B. durch NO_2, Hydroxy, Phenyl(C_{1-4})alkyloxy oder C_1-C_4 Alkoxy) Phenyl oder ein 5- oder 6-gliedriger eventuell auch benzokondensierter aromatischer Heterocyclus, worin 2 Glieder N sind oder ein Glied N und ein Glied O oder S ist, oder ein Glied N, S oder O ist und die übrigen Glieder C sind, vorzugsweise Thienyl, Furyl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Pyrazolyl, Pyridyl, Pyrazinyl, Pyrimidinyl, Pyridazinyl, Indolyl, Isoquinolyl, Quinolyl, Chromanyl, Thiazolyl, Oxazolyl, Morpholinyl.

An kann auch ein Aminosäurerest der Formel III $-NH-(CH_2)_m-CH(R)-CO-$ (III) sein, worin m eine ganze Zahl von 1 bis 11 ist und
R NHX, OX, SX, NXY, $-NH(H)-C(O)-CH_2-X^1$,
$-N(H)-C(O)-CH_2-O-X^1$,
$-N(H)-C(O)-X^1$,
$-N(H)-C(O)-CH=CH-X^1$ oder
$-N(H)-C(O)-O-CH_2-X^1$ ist,

worin

X für Wasserstoff, einen unsubstituierten oder substituierten Benzoylrest, einen unsubstituierten oder substituierten Cyclohexyloxycarbonylrest, einen unsubstituierten oder substituierten Benzyloxycarbonylrest, einen 2-, 3- oder 4-Pyridylmethyloxycarbonylrest oder einen Tosylrest steht,
Y für einen C1 bis C14-Alkylrest oder Aryl-(C1 bis C14-Alkyl)rest steht und

X^1 (α)Phenyl, (β) durch 1, 2 oder 3 Substituenten (Substituent(en): Halogen, Trifluormethyl oder Nitro) substituiertes Phenyl, (γ) Naphthyl, (δ) Benzo[b]thienyl, (ϵ) Pyridyl oder (η) Pyrazinyl ist.

Bevorzugt ist ein Aminosäurerest der Formel III, worin m 1, 2, 3 oder 4 ist und R -NHX, -NXY, -
$-NH(H)-C(O)-CH_2-X^1$,
$-N(H)-C(O)-CH_2-O-X^1$,
$-N(H)-C(O)-X^1$,
$-N(H)-C(O)-CH=CH-X^1$ oder
$-N(H)-C(O)-O-CH_2-X^1$.

Bevorzugte Cyclopeptide der allgemeinen Formel sind solche, worin

Bn, Fn und In unabhängig voneinander Arg, D-Arg, Lys, D-Lys, Orn, D-Orn, Homo-Arg, D-Homo-Arg, Dap, D-Dap oder 4-Amino-Phe sind, vorzugsweise Arg, D-Arg, Lys, D-Lys oder Orn;

Cn Phe, D-Phe, 4-NO_2-Phe, Cha, D-Cha, Ser(Bzl), D-Ser(Bzl), Tyr, D-Tyr, Tyr(Bzl), D-Tyr(Bzl), Nal, D-Nal, Thi, D-Thi, Asp(Bzl), D-Asp(Bzl), His, D-His, Glu(Bzl) oder D-Glu(Bzl) ist, vorzugsweise Phe, Cha, Tyr, Nal, Tyr(Bzl) oder (4-NO_2)-Phe;

Dn und En unabhängig voneinander Ala, Gly, Pro, Ser, Asn, Lys, Asp oder Thr oder ihre D-Form sind, vorzugsweise Dn D-Ala, Gly, Pro, D-Pro, Ser oder D-Ser;

En Gly, Asp oder Asn ist; oder

Dn und En gemeinsam ein ω-Aminosäurerest der Formel -NH-$(CH_2)_{2-5}$-CO- oder ein Peptidtemplat sind, vorzugsweise Btu, Clg, Thc oder Trc oder ihre D-Formen, insbesondere D-Btu sind;

Gn und Kn unabhängig voneinander Ile, D-Ile, Met, D-Met, Nle, D-Nle, Leu, D-Leu, Val oder D-Val sind; vorzugsweise Ile, Met, Nle oder Leu sind;

Hn HOOC-$(CH_2)_{1-4}$-CH(NH-)-CO-, deren D-Formen, Gly, Ala, D-Ala, Asn, D-Asn, Phe oder D-Phe ist, vorzugsweise Asp, Glu oder Gly ist;

An a) An die Gruppe $-A_1 - A_2 - A_3 -$ ist, worin

A_1 Ala, Gly, Phe, Val, Ile, Leu oder Nle oder ihre D-Form ist, vorzugsweise Gly, Ala oder D-Ala;

A_2 eine ω-Aminosäurerest der Formel II ist, worin n 2, 3 oder 5 ist;

A_3 Phe, D-Phe, 4-NO_2-Phe, Cha, D-Cha, Ser(Bzl), D-Ser(Bzl), Tyr, D-Tyr, Tyr(Bzl), D-Tyr(Bzl), Nal, D-Nal, Thi, D-Thi, Asp(Bzl), D-Asp(Bzl), His oder D-His ist, vorzugsweise Phe, Tyr, Cha, Nal oder (4-NO_2)Phe;

oder

b) die Gruppe $-A_4 - A_5 -$ ist, worin A_4 ein ω-Aminosäurerest der Formel II ist, worin n 2, 3 oder 5 ist;

A_5 Phe, D-Phe, 4-NO_2-Phe, Cha, D-Cha, Ser(Bzl), D-Ser(Bzl), Tyr, D-Tyr, Tyr(Bzl), D-Tyr(Bzl), Nal, D-Nal, Thi, D-Thi, Asp(Bzl), D-Asp(Bzl), His, D-His, Glu(Bzl) oder D-Glu(Bzl) ist, vorzugsweise Phe, Tyr, Cha, Nal oder (4-NO_2)-Phe;

oder

c) ein Aminosäurerest der Formel III, worin m 1, 2, 3 oder 4 ist und R wie in Anspruch 8 definiert ist, worin

X für Wasserstoff, einen unsubstituierten oder durch Chlor, Methoxy oder (C1 bis C3) Alkyl substituierten Benzoylrest, Cyclohexyloxy- oder Menthyloxycarbonylrest, einen unsubstituierten oder durch Methoxy, Nitro, Trifluormethyl oder Cyano substituierten Benzyloxycarbonylrest, steht, vorzugsweise für Benzyloxycarbonyl, 4-Methoxybenzyloxycarbonyl, 2- oder 4-Trifluormethylbenzylcarbonyl oder 4-Nitrobenzyloxycarbonyl, insbesondere für Benzyloxycarbonyl, 4-Nitrobenzyloxycarbonyl oder 2- oder 4-Trifluormethylbenzyloxycarbonyl,

Y für einen C1 bis C14-Alkylrest oder (C1 bis C14-Alkyl)-Phenlyrest steht, vorzugsweise für Benzyl oder Phenylethyl ist;

und

X^1 für Phenyl oder mono- oder di-substituiertes Phenyl, 2-Pyridyl, 2-Pyrazinyl, 3-Benzo[b]thienyl, oder 2-Naphthyl steht,

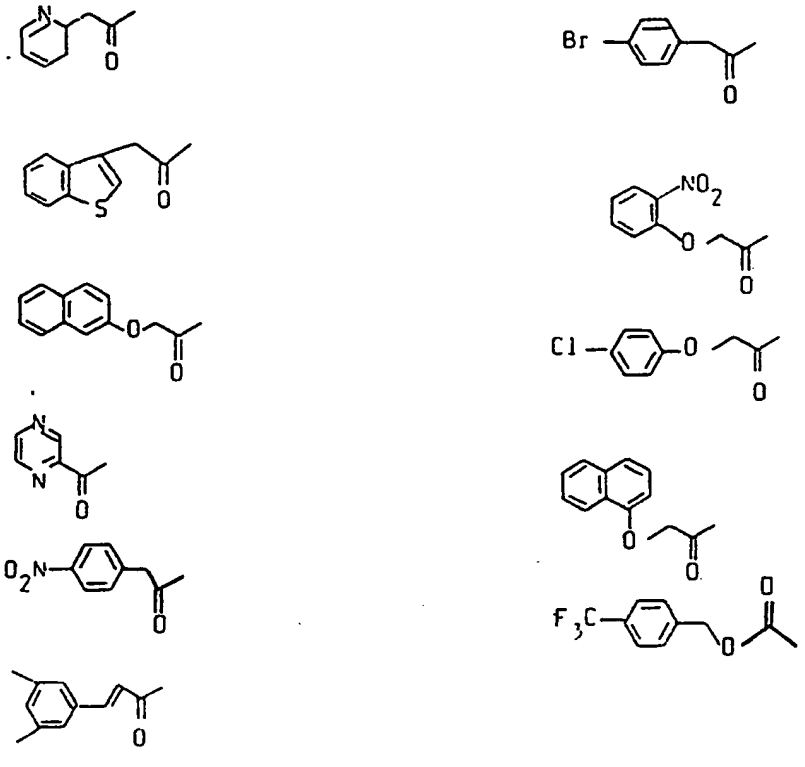
insbesondere solche, worin

An die Gruppe $-A_1 - A_2 - A_3 -$ ist, worin

A_1 Gly ist,
A_2 Aca, ßAla, Apen, Abut, Gly, oder eine kovalente Bindung ist, und
A_3 Phe, Phe(4-NO_2), Tyr oder Tyr(Bzl) ist; oder

An die Gruppe $- A_4 - A_5 -$ ist, worin
A_4 ßAla, Aca, Thc, Aund, Btu oder D-Btu ist, und
A_5 eine kovalente Bindung, Phe, D-Phe, Phe(4-NO_2), Tyr, Tyr(Bzl) oder Cha ist; oder

An ein Aminosäurerest der Formel III
$-NH-(CH_2)_n-CH(R)-CO-$ ist, worin m 1 oder 4 ist und R die Gruppe -NHX, worin X H, Z, Bz, Menoc, $(4-NO_2)Z$, Tos ist oder An X^2 - Lys- ist, worin X^2 eine der folgenden Gruppen ist



ist;

Hervorzuheben sind Cyclopeptide der allgemeinen Formel Ia

$$-A_1-A_2-A_3-Bn-Cn-Dn-En-Fn-Gn-Hn-In-Kn-$$

und ihre Salze, worin

A_2 Aund,
Aca,
ß-Ala,
Apen,
Abut oder
Gly oder eine kovalente Bindung ist;

A_3 Phe,
Phe(4-NO_2),
Cha,
Tyr oder
Tyr (Bzl) ist;

Bn Arg ist;

Cn Phe,
Cha,
Tyr oder
Tyr(Bzl) ist;

Dn D-Ala,
Pro oder
D-Pro ist;

En Gly ist; oder

Dn und En zusammen
ß-Ala,
Abut,
Aoc,
L-Clg,
L-Btu oder
D-Btu sind;

Fn Arg oder
Lys ist;

Gn Ile,
Met,
Aib oder
Nle ist;

Hn Asp oder
Aib ist;

In Arg ist;

Kn Ile ist und

A_1 Gly ist.

Besonders bevorzugt sind Cyclopeptide beziehungsweise ihre Salze, worin

A_2 ein ω-Aminoalkansäurerest der Formel $-NH-(CH_2)_{2-4}-CO-$ ist;

A_3 Phe, Tyr, Cha, Nal oder 4-NO_2-Phe ist;

Bn, Fn und In unabhängig voneinander Arg, D-Arg, Lys, D-Lys, Orn oder Ctr sind;

Cn Phe, Cha, Tyr, Nal oder Tyr(Bzl) ist;

Dn D-Ala, Gly, Phe oder D-Phe ist;

En Gly oder Ala ist; oder

Dn und En zusammen D-Btu sind;

Gn und Kn unabhängig voneinander Ile, Met, Nle oder Leu sind;

Hn Asp, Glu oder Gly ist; und

A_1 Gly, Ala oder D-Ala ist;

insbesondere solche, worin

A_2 ß-Ala, Apen oder, Abut ist;

A_3 Phe, Phe(4-NO_2), Cha oder, Tyr ist;

Bn Arg ist;

Cn Phe, Cha, Tyr oder Tyr(Bzl) ist;

Dn D-Ala ist;

En Gly ist; oder

Dn und En zusammen
D-Btu sind;

Fn Arg oder
Lys ist;

Gn Ile,
Met oder
Nle ist;

Hn Asp ist;

In Arg ist;

Kn Ile ist; und

A_1 Gly ist.

Bevozugte erfindungsgemäße Verbindungen sind:

1. -Aund-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

2. -Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

3. -Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

4. -ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Btu-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

5. ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

6. Phe(4-NO2)-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

7. ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Met-Asp-Arg-Ile-Gly

8. ßAla-Cha-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

9. ßAla-Phe(4-NO2)-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

10. ßAla-Phe(4-NO2)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

11. ßAla-Tyr-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

12. ßAla-Tyr(Bzl)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

13. Aca-Phe-Arg-Phe-ßAla-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

14. -Aca-Phe-Arg-Phe-Abut-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

15. -Apen-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

16. -Abut-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

17. -Gly-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

18. -ßAla-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

19. -Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

20. -Aund-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

21. -Aca-Phe-Arg-Phe-Aoc-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

22. -ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Aib-Asp-Arg-Ile-Gly-

23. -ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Aib-Arg-Ile-Gly-

24. -ßAla-Phe-Arg-Phe-L-Btu-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

25. ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Btu-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

26. ßAla-Phe-Arg-Phe-Pro-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

27. ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Pro-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

28. Tyr-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

29. Tyr(Bzl)-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

30. Phe-Arg-Tyr-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

31. Phe-Arg-Tyr(Bzl)-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

32. ßAla-Phe-Arg-Phe-L-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

33. ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Nle-Asp-Arg-Ile-Gly

sowie deren Salze.

Hervorzuheben sind Cyclopeptide der allgemeinen Formel Ib

$$[A_4\text{-}A_5\text{-Bn-Cn-Dn-En-Fn-Gn-Hn-In-Kn}]$$

und ihre Salze, worin

A_4 Aund,
Aca,
ß-Ala,
Clg, Thc, Btu oder D-Btu ist,

A_5 Phe, D-Phe,
Phe(4-NO_2),
Cha,
Tyr,
Tyr (Bzl) oder eine kovalente Bindung ist;

Bn Arg,
D-Arg,
Ctr,
Lys oder eine kovalente Bindung ist;

Cn Phe,
Cha,
Ser(Bzl) oder
Tyr(Me) ist;

Dn D-Ala,
Gly oder
Azt ist;

En Gly ist;

Fn Arg oder
Lys ist;

Gn Ile, D-Ile,
Met oder
Nle ist;

Hn Asp, D-Asp
Gly oder eine kovalente Bindung ist;

In Arg oder D-Arg ist; und

Kn Ile ist.

Besonders bevorzugt sind Cyclopeptide beziehungsweise ihre Salze, worin

A_4 ein ω-Aminoalkansäurerest der Formel $-NH-(CH_2)_{2-4}-CO-$, oder, wenn A_5 eine kovalente Bindung ist, Clg, Thc, Btu oder D-Btu ist;

A_5 Phe, Tyr, Cha, Nal oder 4-NO_2-Phe ist;

Bn, Fn und In unabhängig voneinander Arg, D-Arg, Lys, D-Lys, Orn oder Ctr sind;
Cn Phe, Cha, Tyr, Nal oder Tyr(Bzl) ist;
Dn D-Ala, Gly, Phe oder D-Phe ist;
En Gly oder Ala ist; oder
Dn und En zusammen D-Btu sind;
Gn und Kn unabhängig voneinander Ile, Met, Nle oder Leu sind; und
Hn Asp, Glu oder Gly ist;

insbesondere solche, worin

A_4 ß-Ala,
Apen oder,
Abut ist, oder, wenn A_5 eine kovalente Bindung ist,
Clg, Thc, Btu oder D-Btu ist;

A_5 Phe,
Phe(4-NO_2),
Cha oder,
Tyr ist; oder

Bn Arg ist;

Cn Phe,
Cha,
Tyr oder
Tyr(Bzl) ist;

Dn D-Ala ist;

En Gly ist; oder

Dn und En zusammen
D-Btu sind;

Fn Arg oder
Lys ist;

Gn Ile,
Met oder
Nle ist;

Hn Asp ist;

In Arg ist; und

Kn Ile ist.

Bevorzugte erfindungsgemäße Verbindungen sind:

1. ßAla-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

2. -Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

3. ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

4. Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

5. ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

6. ßAla-Phe-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

7. Aca-Phe-Lys-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

8. Aca-Phe-Lys-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Ile-Asp-Arg-Ile

9. Aca-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

10. Aca-D-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

11. Aca-Cha-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

12. ßAla-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

13. ßAla-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Met-Asp-Arg-Ile

14. ßAla-Phe(4-NO2)-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

15. ßAla-Phe-Lys-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

16. Clg-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

17. ßAla-Phe(4-NO2)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

18. ßAla-Tyr(Bzl)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

19. ßAla-Tyr-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

20. Thc-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

21. ßAla-Phe-Ctr-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

22. Thc-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

23. Clg-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

24. Aund-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

25. Aund-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

26. Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

27. ┌Aca-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile┐

28. ┌Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Arg-Ile┐

29. ┌ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Arg-Ile┐

30. ┌Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Arg-Ile┐

31. ┌ßAla-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Arg-Ile┐

32. ┌ßAla-Phe-Gly-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile┐

33. ┌Aca-Phe-Gly-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile┐

34. ┌ßAla-Gly-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile┐

35. ┌Aca-Gly-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile┐

36. ┌ßAla-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile┐

37. ┌Aca-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile┐

38. Btu-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

39. D-Btu-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

40. ßAla-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Arg-Ile

41. Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Arg-Ile

42. ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Btu

43. Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Gly-Arg-Ile

44. Aca-Phe-Arg-Tyr(Me)-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

45. Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-D-Ile-Asp-Arg-Ile

46. Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-D-Asp-Arg-Ile

47. Aca-Phe-D-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

48. Aca-D-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

49. Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

50. ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-D-Arg-Ile

51. ßAla-Phe-D-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-D-Arg-Ile

52. Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

53. ßAla-Phe-D-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

54. ßAla-Phe-Arg-Cha-Azt-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

55. ßAla-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

56. Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

57. Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

sowie deren Salze.

Hervorzuheben sind Cyclopeptide der allgemeinen Formel I, und ihre Salze, worin

An H-Lys
Z-Lys
Bz-Lys
Menoc-Lys,
(4-NO_2)Z-Lys
Bz-D-Lys
Tos-Lys
H-Dap oder
Z-Dap ist;

Bn Arg,
Lys,
Phe oder
Orn ist;

Cn Phe,
Cha oder
Ser(Bzl) ist;

Dn D-Ala ist;

En Gly ist; oder

Dn und En zusammen
L-Clg oder
D-Clg sind;

Fn Arg oder
Lys ist;

Gn Ile oder
Nle ist;

Hn Asp ist;

In Arg ist; und

Kn Ile ist.

Besonders bevorzugt sind Cyclopeptide beziehungsweise ihre Salze, worin

An ein Aminoalkansäurerest der Formel $-NH-(CH_2)_n-CH(R)-CO-$ ist, worin
n 1 oder 4 ist, R NHX oder NXY ist,
X Benzyloxycarbonyl, 4-Nitrobenzyloxycarbonyl, 2- oder 4-Trifluormethylbenzyloxycarbonyl, Cyclohexyloxycarbonyl oder Menthyloxycarbonyl ist und Y Benzyl oder Phenylethyl ist;

Bn, Fn und In unabhängig voneinander Arg, D-Arg, Lys, D-Lys, Orn oder Ctr sind;

Cn Phe, Cha, Tyr, Nal, Tyr(Bzl) oder 4-NO_2-Phe ist;

Dn D-Ala, Gly, Phe oder D-Phe ist;
En Gly, Ala oder Phe ist; oder
Dn und En zusammen D-Btu, L-Clg oder D-Clg sind;
Gn und Kn unabhängig voneinander Ile, Met, Nle oder Leu sind; und
Hn Asp, Glu oder Gly ist;

insbesondere solche, worin

An H-Lys
Z-Lys
Bz-Lys
Menoc-Lys,
(4-NO_2)Z-Lys
Bz-D-Lys
Tos-Lys
H-Dap oder
Z-Dap ist;

Bn Arg, Lys, Orn oder Phe ist;

Cn Phe,
Cha oder
Ser(Bzl) ist;

Dn D-Ala ist;

En Gly ist; oder

Dn und En zusammen
L-Clg oder D-Clg sind;

Fn Arg oder
Lys ist;

Gn Ile oder
Nle ist;

Hn Asp ist;

In Arg ist; und

Kn Ile ist.

Bevorzugte erfindungsgemäße Verbindungen sind:

1. H-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

2. Z-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

3. Z-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile-

4. Bz-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

5. Z-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

6. Z-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

7. Menoc-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

8. Menoc-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

9. H-Lys-Lys-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

10. Z-Lys-Lys-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

11. Z-Lys-Phe-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

12. (4-NO_2)Z-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

13. Z-Lys-Orn-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

14. H-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

15. H-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

16. Bz-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

17. Bz-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

18. Bz-D-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

19. Tos-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

20. H-Lys-Arg-Phe-L-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

21. Z-Lys-Arg-Phe-L-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

22. Z-Lys-Arg-Cha-L-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

23. Z-Lys-Arg-Cha-D-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

24. H-Dap-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

25. Z-Dap-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

sowie deren Salze.

Hervorzuheben sind Cyclopeptide der allgemeinen Formel I und ihre Salze, worin

An wie oben definiert ist,

Bn Arg,
Lys,
Phe oder
Orn ist;

Cn Phe,
Cha oder
Ser(Bzl) ist;

Dn D-Ala ist;

En Gly ist; oder

Dn und En zusammen
L-Clg oder
D-Clg sind;

Fn Arg oder
Lys ist;

Gn Ile oder
Nle ist;

Hn Asp ist;

In Arg ist; und

Kn Ile ist.

Besonders bevorzugt sind Cyclopeptide beziehungsweise ihre Salze, worin

An ein Aminoalkansäurerest der Formel $-NH-(CH_2)_n-CH(R)-CO-$ ist, worin
n 1 oder 4 ist,
R $-NH(H)-C(O)-CH_2-X^1$
$-N(H)-C(O)-CH_2-O-X^1$
$-N(H)-C(O)-X^1$
$-N(H)-C(O)-CH=CH-X^1$ oder
$-N(H)-C(O)-O-CH_2-X^1$ ist,
worin X^1 (a)Phenyl, (b) durch 1 oder 2 Substituenten substituiertes Phenyl, (c) 1- oder 2-Naphthyl, (d) 3-Benzo[b]thienyl, (e) 2-Pyridyl oder (f) 2-Pyrazinyl ist;
Bn, Fn und In unabhängig voneinander Arg, D-Arg, Lys, D-Lys, Orn oder Ctr sind;
Cn Phe, Cha, Tyr, Nal, Tyr(Bzl) oder $4-NO_2$-Phe ist;
Dn D-Ala, Gly, Phe oder D-Phe ist;
En Gly, Ala oder Phe ist; oder
Dn und En zusammen D-Btu, L-Clg oder D-Clg sind;
Gn und Kn unabhängig voneinander Ile, Met, Nle oder Leu sind; und
Hn Asp, Glu oder Gly ist;

insbesondere solche, worin

An $-NH-(CH_2)_4-CH(R)-CO-$ ist, worin
R wie oben definiert ist und
$-B_n-C_n-D_n-E_n-F_n-G_n-H_n-I_n-K_n-$ die Kette -Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile- ist,
unter besonderer Beachtung der Beispiele.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind ANP-Agonisten. Sie zeigen wie das natürliche ANP eine

- spezifische und affine Bindung an ANP-Rezeptoren
- diuretische und saluretische Eigenschaften
- blutdrucksenkende Wirkung

- Hämatokrit-Steigerung
- Erhöhung des Plasmaspiegels von cyclischem GMP (GMP: vermutlich der intrazelluläre Botenstoff ("second messenger"), welches sich im Plasma nach ANP-Gabe vermehrt nachweisen läßt.)
- Erhöhung der glomerulären Filtration
- gefäßrelaxierende Wirkung
- broncholytische Wirkung
- spasmolytische Wirkung an glatter Muskulatur, insbesondere am Darm.

Diese Eigenschaften der erfindungsgemäßen Verbindungen werden im einzelnen wie folgt getestet:

- Bindung an ANP-Rezeptoren
 Die Bindung an ANP-Rezeptoren von Zona-glomerulosa-Zellen aus Rindernebennieren wird nach der Methode von Bürgisser et al. (Biochem. Biophys. Res. Commun. 133, 1201 (1985)), modifiziert nach Bürgisser (2nd World Congress on Biologically Active Atrial Peptides, May 16-21, New York Am. Soc. Hypertens., Abstr. B181, P. 209 (1987)) mit einem kommerziell verfügbaren Kit der Fa. ANAWA, Wangen, Schweiz, bestimmt.

- Blutdrucksenkung, diuretische/saluretische Wirkung, Hämatokritanstieg, cyclo-GMP-Anstieg
 Die Untersuchungen werden an narkotisierten (Nembutal^{R}) spontan-hypertensiven Ratten (Ivanovas) durchgeführt. Die Trachea wird kanüliert. Der Blutdruck wird aus der A. carotis über einen Druck-Spannungswandler (Statham) auf einem Schreiber (Watanabe Multicorder) registriert. Die Herzfrequenz wird aus der Anzahl der Pulswellen pro Zeiteinheit

errechnet. Die Substanzapplikation erfolgt durch eine kanülierte V. jugularis. Durch einen kleinen Bauchschnitt wird die Blase kanüliert und der Urin aufgefangen. Das Urinvolumen wird gravimetrisch bestimmt. Natrium und Kalium werden flammenphotometrisch gemessen, Chlorid durch Elektrotitration. Der Hämatokrit wird aus dem arteriellen Blut gemessen. Das cyclische GMP wird aus dem arteriellen Blut mit einem kommerziell erhältlichen Radioimmunoassay (IBL, Hamburg) bestimmt.

- Einfluß auf die glomeruläre Filtration
 Die glomeruläre Filtrationsrate wird am narkotisierten Hund durch Bestimmung der Inulin-Clearance nach Standardverfahren Führ et al., (Klin. Wschr. 33, 729 (1955)) gemessen.

- Gefäßrelaxation
 Die gefäßrelaxierende Wirkung in Analogie zu ANP wird nach einer modifizierten Methode von Faison et al. (Eur. J. Pharmacol. 102, 169 (1984)) bestimmt. Die Kaninchen-Brustaorta wird durch eine supramaximale Serotonin-Konzentration kontrahiert. 15 Minuten nach Zugabe der Testsubstanz wird die Serotonin-Kontraktion im Vergleich zur Lösungsmittelkontrolle gemessen. Aus mehreren Dosen wird die EC_{50} graphisch bestimmt.

- Broncholytische Wirkung
 Nach der Methode von Konzett und Rössler (Arch. exper. Path. Pharmacol. 195, 71 (1940)) wird die Antagonisierung von Histamin-Bronchospasmen nach i.v. Gabe der Testsubstanz untersucht.

- Spasmolytische Wirkung am Hühner-Rektum
 Nach der Methode von Currie et al. (Science, 221/4605, 71 (1983)) wird die spasmolytische Wirkung gegen eine Carbachol-Kontraktion am Hühner-Rektum bestimmt.

Die Applikation der erfindungsgemäßen Verbindungen kann intravenös, subcutan, intramuskulär, intraperitoneal, intranasal, inhalativ, transdermal, bevorzugt durch Iontophorese oder literaturbekannte Enhancer gefördert, und oral erfolgen. Am Ganztier verschiedener Spezies liegen die Dosen, die eine deutliche Blutdrucksenkung (>20 mmHg) und/oder Diurese (+ 300 %) bzw. Salurese (+ 300 %) sowie einen Anstieg des Hämatokrit (+ 3 %) und des cyclischen GMP (+ 200 %) hervorrufen, zwischen 1 µg/kg und 50 mg/kg. Die Dosen für eine broncholytische Wirkung am Meerschweinchen liegen in den gleichen Größenordnungen. Die Bindung an die Rezeptoren des ANP in Zona-glomerulosa-Zellen von Rindernebennieren erfolgt mit einer IC_{50} zwischen 1.10^{-10} und 1.10^{-5} mol/l. Gefäßrelaxierende Wirkung an Kaninchen-Aortenringen in-vitro tritt auf mit einer EC_{50} zwischen 1.10^{-9} und 1.10^{-4} mol/l. Die Konzentration für eine spasmolytische Wirkung am Hühner-Rektum liegen in den gleichen Größenordnungen.

Da die Rezeptorbindung der einzelnen erfindungsgemäßen Verbindungen sowie die von ANP in der Potenz gut mit den biologischen Wirkungen korreliert, ist von der Identität des Wirkungsmechanismus zwischen den natürlich vorkommenden Peptiden und den hier beschriebenen

Verbindungen auszugehen. Somit können auch weitere für das natürliche Peptid ANP beschriebene biologische Eigenschaften, die hier nicht im einzelnen beschrieben werden, von den erfindungsgemäßen Verbindungen erwartet werden.

Die Größenordnungen der Wirkungen der erfindungsgemäßen Verbindungen sind mit denen von ANP vergleichbar. Der wesentliche Vorteil der erfindungsgemäßen Verbindungen ist ihre wesentlich geringere Molekulargröße. Aus dem Stand der Technik konnte nicht geschlossen werden, daß die Verbindungen mit so wesentlich geringerer Molekulargröße Wirkungsdaten in befriedigender Größe aufweisen. Bedingt durch die geringere Molekulargröße, ist die Synthese der erfindungsgemäßen Verbindungen wesentlich einfacher und daher preiswerter als die Synthese von ANP oder von ANP-Derivaten mit großen Molekulargewichten, die dem von ANP ähnlich sind. Die Bioverfügbarkeit der erfindungsgemäßen Verbindungen (insbesondere bei transdermaler Verabreichung) ist wesentlich größer als bei ANP und ANP-ähnlichen Derivaten. Die erfindungsgemäßen Verbindungen enthalten im Gegensatz zu ANP keine Disulfidbrücken, wodurch ihre metabolische Stabilität gegenüber ANP und ANP-ähnlichen Derivaten verbessert wird.

Die folgenden Verbindungen werden besonders hervorgehoben, da ihre ANP-Rezeptorbindungswerte (Testbeschreibung siehe oben "Bindung an ANP-Rezeptoren") IC_{50} kleiner als 5×10^{-8} Mol betragen.

Aund-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Btu-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Phe(4-NO2)-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Met-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Cha-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Phe(4-NO2)-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Phe(4-NO2)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Tyr-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Tyr(Bzl)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Apen-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Abut-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Gly-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Btu-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Phe-Arg-Phe-Pro-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Pro-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Tyr-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Tyr(Bzl)-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Phe-Arg-Tyr-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Phe-Arg-Tyr(Bzl)-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Phe-Arg-Phe-L-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Nle-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Aca-Phe-Lys-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Aca-Phe-Lys-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Ile-Asp-Arg-Ile

Aca-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Aca-D-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Aca-Cha-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Met-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe(4-NO2)-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe-Lys-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe(4-NO2)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Tyr(Bzl)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Tyr-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe-Ctr-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Thc-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Aund-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Aund-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Aca-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Btu-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

D-Btu-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Gly-Arg-Ile

Aca-Phe-Arg-Tyr(Me)-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-D-Ile-Asp-Arg-Ile

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-D-Asp-Arg-Ile

Aca-Phe-D-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Aca-D-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-D-Arg-Ile

ßAla-Phe-D-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ERSATZBLATT

H-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Z-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Z-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Bz-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Z-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Z-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Menoc-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Menoc-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

H-Lys-Lys-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Z-Lys-Lys-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

(4-NO_2)Z-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Z-Lys-Orn-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

H-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Bz-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Bz-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Bz-D-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Tos-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

H-Lys-Arg-Phe-L-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Z-Lys-Arg-Phe-L-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Z-Lys-Arg-Cha-L-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

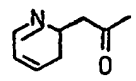
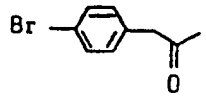
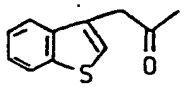
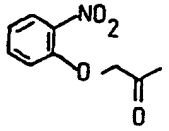
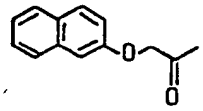
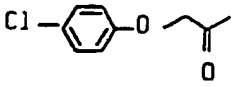
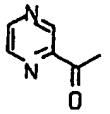
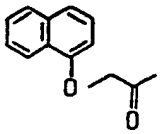
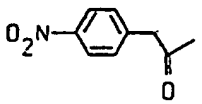
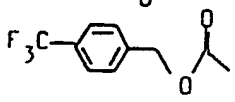
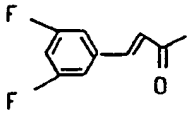
Z-Lys-Arg-Cha-D-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Z-Dap-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

$(4\text{-}NO_2)$Z-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Met-Asp-Arg-Ile

$(4\text{-}NO_2)$Z-Lys-Orn-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

X^2-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-

X^2	X^2
	
	
	
	
	
	

Aufgrund des Wirkungsspektrums können die erfindungsgemäßen Verbindungen als Antihypertensiva, als Hypotensiva, als Diuretika, zur Förderung der Durchblutung (vasodilatorische Wirkung), z.B. bei vaskulärer Insuffizienz und zur Behandlung von Herzinsuffizienz, Koronarinsuffizienz, zerebrovaskulärer Insuffizienz, Niereninsuffizienz, akutem Nierenversagen sowie bei Ödemen jeder Genese, z.B. Hirnödem, auch bei Leberzirrhose, ferner als Spasmolytika für alle glattmuskulären Organe, besonders Magen-Darm- Trakt inklusive Gallenblase sowie harnableitende Organe und als Broncholytika verwendet werden.

Ferner können sie zur Diagnostik der angeführten Krankheitsbilder sowie zur Untersuchung der angeführten Organsysteme eingesetzt werden. Darüberhinaus können sie als Hilfsmittel zur Erzeugung und Reinigung (Affinitätschromatographie) von Antikörpern bzw. Rezeptorpräparationen sowie in immunologischen Testverfahren (z.B. RIA, ELISA) und Rezeptor-Bindungstests (z.B. Radiorezeptorassay) als spezifische und selektive Liganden Anwendung finden.

Die Erfindung betrifft daher auch die Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I als Heilmittel und pharmazeutische Zubereitungen, die diese Verbindungen enthalten. Bevorzugt ist die Anwendung am Menschen.

Zur parenteralen Applikation werden die erfindungsgemäßen Verbindungen eventuell mit den dafür üblichen Substanzen wie Lösungsvermittler, Emulgatoren oder weiteren Hilfsstoffen in Lösung, Suspension oder Emulsion gebracht. Als Lösungsmittel kommen z.B. in Frage: Wasser, physiologische Kochsalzlösung oder Alkohole, z.B. Ethanol, Propandiol oder Glycerin, Zuckerlösungen wie Glucose - oder Mannit-Lösungen oder auch eine Mischung aus verschiedenen Lösungsmitteln.

ERSATZBLATT

Außerdem können die Verbindungen durch Implantate, z.B. aus Polylactid, Polyglycolid oder Polyhydroxybuttersäure appliziert werden. Weitere Möglichkeiten der Applikation sind die intranasalen Applikation, die inhalative Applikation, (Piezo-Gerät, Dosier-Aerosol, Pulver-Inhalator), die transdermale Applikation (Pflasterpräparation, Creme, Salbe, Gel, passives Pflaster, wobei die Wirkung durch "Enhancer" für die Penetration und/oder durch ein elektrisches Feld (Iontophorese) verstärkt werden kann), die orale Applikation (Tabletten, Kapseln, Dragées, etc.).

Die Erfindung betrifft ebenfalls die Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I als Komponenten und Zwischenprodukte in den oben geschilderten biochemischen, biotechnischen und immunologischen Verfahren (Erzeugung von Antikörpern, Affinitätschromatographie, RIA, ELISA, Radiorezeptorassay).

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können nach allgemein bekannten Methoden der Peptidchemie hergestellt werden. Solche Verfahren werden in Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie Bd 15/2 beschrieben. Bevorzugt ist die Herstellung nach der Festphasenpeptidsynthese (z.B. G.Barany,R.B. Merrifield in The Peptides-Analysis, Synthesis, Biology, Vol.2, 2-284 (1980), Academic Press, New York oder R.C. Sheppard, Int.J.Pept.Prot.Res.21,118 (1983)) oder gleichwertigen bekannten Methoden hergestellt. Als Aminoschutzgruppen werden die in Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie Bd 15/1 beschriebenen verwendet. Bevorzugt werden Urethanschutzgruppen wie z.B. die Fluorenylmethoxycarbonyl- oder die tert-Butyloxycarbonylgruppe angewendet. Zur Verhinderung von Nebenreaktionen sind in der Regel eventuell vorhandene Gruppen in den Seitenketten der Aminosäuren

durch geeignete Schutzgruppen (siehe z.B.Houben-Weyl Bd 15/1 oder T.W.Greene, Protective Groups in Organic Synthesis) zusätzlich geschützt. Verwendet werden dabei Arg(NO_2), Arg(di-Z), Arg(Pmc), Arg(Mtr), Tyr(tBu), Tyr(Bzl), Tyr(2,6-Di-Cl-Bzl), Ser(tBu), Ser(Bzl), Asp(tBu), Asp(Bzl), Glu(tBu), Glu(Bzl), His(Trt), His(Bum), Lys(Boc), Lys(Z), Z-Lys, Orn(Boc), Dap(Boc), Homo-Arg(Mtr), Homo-Arg(Pmc), Homo-Arg(NO_2).

Zur Synthese der Verbindungen der allgemeinen Formel I nach der Festphasensynthese sind bekannte Harze auf Polystyrol-, Polyacrylamid- und Polyetherbasis geeignet. Zur Synthese von Cyclopeptiden ist es erforderlich, solche Ankergruppen zu verwenden, die bei der Abspaltung Peptidcarbonsäuren liefern. Dabei ist es besonders vorteilhaft, Ankergruppen zu verwenden, bei denen die Abspaltung unter so milden Bedingungen abläuft, daß eventuell vorhandene Seitenkettenschutzgruppen erhalten bleiben. Bei Verwendung der Fmoc-Strategie sind solche Ankergruppen : die 2-Methoxy-4-alkoxybenzylalkohol-Gruppe (M.Mergler et. al., Proceedings of the 10th American Peptide Symposium 1987,St.Louis,S.259 G.R.Marshall,ed Escom, Leiden (1988), die Hydroxycrotonoylamidomethyl-Gruppe (H.Kunz,B.Dombo, Angew. Chem. Int. Ed. Engl.27,711 (1988)) oder die Trialkoxybenzhydryl-alkohol-Gruppe (H.Rink, P.Sieber, Peptides 1988, S.139, G.Jung, E. Bayer Eds., W.deGruyter, Berlin 1989).

Die Abspaltung der Amino-Schutzgruppe erfolgt im Fall der Boc-Gruppe mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan oder im Fall der Fmoc-Gruppe bevorzugt mit organischen Basen, besonders Aminen wie z.B. Piperidin oder Morpholin in DMF

oder N-Methylpyrrolidon (NMP). Übliche Konzentrationen sind 20 bis 50% der Base im Lösungsmittel, die Reaktionszeiten liegen zwischen 10 und 120 Minuten. Bevorzugt wird die Spaltung in zwei Schritten durchgeführt, wobei die erste Reaktionszeit etwa 3 Minuten beträgt. Das Harz wird anschließend kurz mit Lösungsmittel gewaschen. Es schließt sich eine weitere Abspaltung mit 20% Piperidin in DMF an, nach der die Lösung abgesaugt wird und das Harz sorgfältig mit Lösungsmittel gewaschen wird. Bevorzugte Lösungsmittel für diese Waschschritte sind DMF, NMP, Dichlormethan, Trichlormethan, Methanol, Ethanol, Isopropanol, Wasser und Tetrahydrofuran. Nach vollständiger Entfernung des Piperidins wird die zur nächsten Kupplung erforderliche Fmoc-Aminosäure angekuppelt. Dieser Cyclus wird nacheinander so oft durchlaufen, bis das gewünschte Harz-gebundene Peptid entstanden ist.

Zur Kupplung können die in der Peptidchemie bekannten Methoden (s. Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie Bd 15/2) angewendet werden. Bevorzugt verwendet werden Carbodiimide, wie z.B. Dicyclohexylcarbodiimid, Diisopropylcarbodiimid, Ethyl-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid oder O-Benzotriazol-1-yl-tetramethyl-uroniumhexafluorophosphat oder tetrafluoroborat (R. Knorr et al., THL 30, 1927 (1989)) oder Benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(dimethylamino)-phosphoniumhexafluorophosphat (B. Castro et al., THL 1975, 1219). Durch Zusatz von 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) oder 3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydrobenzotriazin (HOObt) kann gegebenenfalls die Racemisierung unterdrückt bzw. die Reaktionsgeschwindigkeit gesteigert werden. Die Aminosäuren Asn und Gln werden bevorzugt in Form ihrer N-geschützten p-Nitrophenylester gekuppelt. Die

Kupplungen werden normalerweise mit einem 2- bis 5-fachen Überschuß an N-geschützter Aminosäure und Kupplungsreagenz in Lösungsmitteln wie Dichlormethan, Dimethylformamid, N-Methylpyrrolidon (NMP) oder Gemischen aus diesen durchgeführt. Der Verlauf der Kupplungsreaktion wird durch den Kaiser-Test (E. Kaiser u.a., anal. Biochem. 34, 595 (1970) oder durch den TNBS-Test verfolgt. Falls eine unvollständige Acylierung festgestellt wird, wird die Kupplung bis zur Vollständigkeit wiederholt. Die Festphasensynthese kann sowohl manuell als auch automatisch mit Hilfe eines Peptidsynthesizers erfolgen.

Die so synthetisierten linearen Peptide werden anschließend nach geeigneten, in der Literatur bekannten Verfahren cyclisiert. Als Cyclisierungsreagenzien können die für die Kupplung der Aminosäuren verwendeten oder auch Pentafluorphenylester/DMAP oder Diphenylphosphorylazid (DPPA) Anwendung finden.
Zur Synthese der Verbindungen der allgemeinen Formel I wird vorzugsweise die Festphasensynthese nach der Fmoc-Strategie unter Verwendung des 2-Methoxybenzyloxybenzylester- Ankers bevorzugt. Zum Aufbau der Sequenzen werden als Kupplungsmethoden das DCC/HOBt-, das DIC/HOBt- oder das TBTU-Verfahren bevorzugt. Nach Aufbau der Sequenzen am Harz wird die N-terminale Fmoc-Gruppe wie üblich gespalten, das Harz nach Entfernen des Piperidins gründlich mit Dichlormethan gewaschen und anschließend zur Abspaltung des Peptids mit einer 1%igen Lösung von Trifluoressigsäure in Dichlormethan behandelt. Dabei bleiben die Seitenkettenschutzgruppen der Peptide erhalten. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels werden die Peptide mit einem Cyclisierungsreagenz, bevorzugt

Diphenylphosphorylazid, zu den entsprechenden Cyclopeptiden umgesetzt. Anschließend werden noch vorhandene Seitenkettenschutzgruppen durch entsprechende Abspaltungsreagenzien entfernt. Bevorzugt sind dabei Trifluoressigsäure/Scavenger-Mischungen. Als Scavenger kommen Substanzen wie z.B. Anisol, Thioanisol, Kresol, Thiokresol, Ethandithiol, Wasser oder ähnliche sowie Gemische dieser Scavenger bevorzugt zum Einsatz. Die Peptide werden anschließend nach den in der Peptidchemie üblichen Methoden aufgearbeitet und gereinigt.

Die Reinigung der erhaltenen Rohprodukte erfolgt mittels Gelchromatographie z.B. an Sephadex G25 (MR<1400) oder G15 (MR<1400) mit 1 %iger oder 5 %iger Essigsäure. Falls erforderlich erfolgt die weitere Aufreinigung mittels präparativer RP-HPLC mit Methanol- oder Acetonitril-Wasser-Gradienten unter Zusatz von 1 bis 2 % Trifluoressigsäure.

Zur Reinigung können auch Kationenaustauscher auf Sephadex- oder Polystyrol-Basis angewendet werden.

Die Reinigung erfolgt bevorzugt über Reversed Phase HPLC unter Verwendung von Wasser/Acetonitril-Gradienten mit Zusatz von
0.1 bis 0.2% Trifluoressigsäure.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I werden mittels RP-HPLC auf Reinheit geprüft. Es wird jeweils eine Aminosäureanalyse am Ionenaustauscher (LKB) und am Gaschromatographen an chiraler Säule zur zusätzlichen Racemisierungskontrolle durchgeführt. Darüberhinaus werden 13C-NMR-Spektren (Bruker 400 MHz) sowie

FAB-Massenspektren (Finnigan MAT 90) aufgenommen. Die Sequenzbestimmung erfolgt mittels Gasphasensequenzierung nach tryptischer Spaltung.

Die folgenden Beispiele verdeutlichen die Synthese der erfindungsgemäßen Verbindungen, ohne daß die Erfindung darauf eingeschränkt wird.

Beispiel 1

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

Die Peptidsynthese erfolgte mit einem Peptidsynthesizer ACT200 der Firma Advanced ChemTech unter Verwendung der Fmoc-Strategie unter Verwendung eines modifizierten Steuerprogramms. Der 50ml- Schüttelreaktor wurde mit 1g 2-Methoxybenzylester-Harz der Firma Bachem, Schweiz, das mit 0.5 mmol Fmoc-Glycin beladen war, beschickt. Folgende Aminosäure-Derivate wurden verwendet: Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-D-Ala-OH, Fmoc-Phe-OH und Fmoc-ßAla-OH. Die Kupplungen wurden unter Verwendung von jeweils 3 Äquivalenten Fmoc-Aminosäure, 1-Hydroxybenzotriazol und Dicyclohexylcarbodiimid durchgeführt (Kupplungszeit 40 Minuten). Nach Durchführung des TNBS-Tests wurde bei nicht-vollständiger Acylierung die Kupplung unter Verwendung der gleichen Reagenzien und Überschüsse wiederholt. Bei vollständiger Acylierung wurde der nächste Synthesecyclus gestartet. Die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppen wurde jeweils mit 20% Piperidin in DMF (einmal 3 Minuten, einmal 15 Minuten) durchgeführt. Zwischen den Reaktionen wurde das Harz jeweils 10mal mit DMF gewaschen. Nach Aufbau der linearen Sequenz H-ßAla-Phe-Arg(Mtr)-Phe-D-Ala-Gly-Arg(Mtr)-Ile-Asp(tBu)-Arg(Mtr)-Ile-Gly- am polymeren Träger wurde das Harz gründlich mit Dichlormethan gewaschen und anschließend 5mal mit jeweils 20 ml einer 1%igen Lösung von Trifluoressigsäure in Dichlormethan maximal 10 Minuten bei Raumtemperatur behandelt (bis zur intensiven lila-Färbung des Harzes). Die Lösungen wurden

vereinigt und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde mit Ether verrieben, der Ether abdekantiert, das Peptid im Stickstoffstrom getrocknet und in 130ml DMF aufgenommen, der pH-Wert auf ca.8,5 mit Triethylamin eingestellt, die Lösung auf -20 C abgekühlt und 0.2 g (0,75 mmol) Diphenylphosphorylazid zugegeben. Es wurde 48 Stunden bei -20°C, 48 Stunden bei 4°C stehengelassen. Der pH-Wert wurde mit Triethylamin auf 8,5 gehalten. Danach wurde DMF im Vakuum entfernt, der Rückstand zweimal mit Ether verrieben, der Ether abdekantiert und der Rückstand mit einem Stickstoffstrom getrocknet. Die Seitenketten-schutzgruppen wurden mit Trifluoressigsäure/Anisol (90/10) 24 Stunden bei Raumtemperatur abgespalten. Die Lösung wurde im Vakuum eingeengt, der Rückstand mit Ether digeriert und getrocknet. Das Rohpeptid wurde über eine Dynamax C18, 3µ-Säule (10 x 2,14 cm) unter Verwendung eines Gradienten aus A: Wasser/Acetonitril/Trifluoressigsäure 95/5/0.2 und B: dito 20/80/0,2 von 10%B auf 80%B in 11 Minuten, Fluß 20 ml, Retentionszeit 6,01 Minuten, gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde ein amorphes farbloses Pulver erhalten. FAB-MS (M+H)+ = 1360,5

Beispiel 2

Aund-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Aund-OH statt Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,45 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1473.2

Beispiel 3

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,00 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1403.1

Beispiel 4

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,80 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1374.9

Beispiel 5

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Btu-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-D-Btu-OH statt Fmoc-D-Ala-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,05 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1372.7

Beispiel 6

(4-NO2)-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Phe(4-NO2)-OH und ohne Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,45 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1334.9

Beispiel 7

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Met-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter zusaätzlicher Verwendung von Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,10 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1378.8

Beispiel 8

ßAla-Cha-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Cha-OH statt Fmoc-Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,75 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1373.0

Beispiel 9

ßAla-Phe(4-NO2)-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Phe(4-NO2)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie- Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,50 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1406.2

Beispiel 10

ßAla-Phe(4-NO2)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Cha-OH und Fmoc-Phe(4-NO2)-OH statt Fmoc-Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,40 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1412.0

Beispiel 11

ßAla-Tyr-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

Unter Verwendung von Fmoc-Tyr(tBu)-OH und Fmoc-Cha-OH statt Fmoc- Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,40 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1383.2

Beispiel 12

ßAla-Tyr(Bzl)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly-

Unter Verwendung von Fmoc-Tyr(Bzl)-OH und Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 8,50 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1473.2

Beispiel 13

Aca-Phe-Arg-Phe-ßAla-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH und Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 4,60 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1345.9

Beispiel 14

Aca-Phe-Arg-Phe-Abut-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Abut-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 4,85 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1373.8

Beispiel 15

Apen-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Apen-OH statt Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 4,50 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1388.8

Beispiel 16

Abut-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Abut-OH statt Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 4,35 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1374.8

Beispiel 17

Gly-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Gly-OH statt Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 4,45 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1346.8

Beispiel 18

ßAla-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung der in Beispiel 1 beschriebenen Fmoc-Aminosäuren wurde ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 3,25 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1213.8

Beispiel 19

Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 3,45 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1255.8

Beispiel 20

Aund-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Aund-OH statt Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 5,15 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1325.8

Beispiel 21

Aca-Phe-Arg-Phe-Aoc-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Aoc-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,10 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1416.2

Beispiel 22

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Aib-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Aib-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,70 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1217.8

Beispiel 23

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Aib-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Aib-OH statt Fmoc-Asp(tBu)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (35% nach 65% B in 13.5 min, Retentionszeit 3,70 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1330.9

Beispiel 24

ßAla-Phe-Arg-Phe-L-Btm-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-L-Btm-OH statt Fmoc-D-Ala-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,90 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1372.7

Beispiel 25

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Btm-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-D-Btm-OH statt Fmoc-D-Ala-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,05 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1372.7

Beispiel 26

ßAla-Phe-Arg-Phe-Pro-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-Pro-OH statt Fmoc-D-Ala-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,15 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1386.8

Beispiel 27

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Pro-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-D-Pro-OH statt Fmoc-D-Ala-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,35 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1386.8

Beispiel 28

Tyr-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Tyr(tBu)-OH und ohne Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,40 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1306.0

Beispiel 29

Tyr(Bzl)-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Tyr(Bzl)-OH und ohne Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,10 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1395.9

Beispiel 30

Phe-Arg-Tyr-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Tyr(tBu)-OH und ohne Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,55 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1305.9

Beispiel 31

Phe-Arg-Tyr(Bzl)-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Tyr(Bzl)-OH und ohne Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,10 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1395.9

Beispiel 32

ßAla-Phe-Arg-Phe-L-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter Verwendung von Fmoc-L-Clg-OH statt Fmoc-D-Ala-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,90 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1400.8

Beispiel 33

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Nle-Asp-Arg-Ile-Gly

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Nle-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,40 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1360.4

Beispiel 34

ßAla-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Met-Asp-Arg-Ile

Die Peptidsynthese erfolgte mit einem Peptidsynthesizer ACT200 der Firma Advanced ChemTech unter Verwendung der Fmoc-Strategie unter Verwendung eines modifizierten Steuerprogramms. Der 50ml-Schüttelreaktor wurde mit 1g 2-Methoxybenzylester-Harz der Firma Bachem, Schweiz, das mit 0.5 mmol Fmoc-Isoleucin beladen war, beschickt. Folgende Aminosäure-Derivate wurden verwendet: Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-D-Ala-OH, Fmoc-Cha-OH, Fmoc-Phe-OH und Fmoc-ßAla-OH. Die Kupplungen wurden unter Verwendung von jeweils 3 Äquivalenten Fmoc-Aminosäure, 1-Hydroxybenzotriazol und Dicyclohexylcarbodiimid durchgeführt (Kupplungszeit 40 Minuten). Nach Durchführung des TNBS-Tests wurde bei nicht-vollständiger Acylierung die Kupplung unter Verwendung der gleichen Reagenzien und Überschüsse wiederholt. Bei vollständiger Acylierung wurde der nächste Synthesecyclus gestartet. Die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppen wurde jeweils mit 20% Piperidin in DMF (einmal 3 Minuten, einmal 15 Minuten) durchgeführt. Zwischen den Reaktionen wurde das Harz jeweils 10mal mit DMF gewaschen. Nach Aufbau der linearen Sequenz H-ßAla-Phe-Arg(Mtr)-Cha-D-Ala-Gly-Arg(Mtr)-Met-Asp(tBu)-Arg(Mtr)-Ile- am polymeren Träger wurde das Harz gründlich mit Dichlormethan gewaschen und anschließend 5mal mit jeweils 20 ml einer 1%igen Lösung von Trifluoressigsäure in Dichlormethan maximal 10 Minuten

bei Raumtemperatur behandelt (bis zur intensiven lila-Färbung des Harzes). Die Lösungen wurden vereinigt und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird mit Ether verrieben, der Ether abdekantiert, das Peptid im Stickstoffstrom getrocknet und in 130ml DMF aufgenommen, der pH-Wert auf ca.8,5 mit Triethylamin eingestellt, die Lösung auf -20°C abgekühlt und 0.2g (0,75 mmol) Diphenylphosphorylazid zugegeben. Es wurde 48 Stunden bei -20°C, 48 Stunden bei 4°C stehengelassen. Der pH-Wert wurde mit Triethylamin auf 8,5 gehalten. Danach wurde DMF im Vakuum entfernt, der Rückstand zweimal mit Ether verrieben, der Ether abdekantiert und der Rückstand mit einem Stickstoffstrom getrocknet. Die Seitenkettenschutzgruppen wurden mit Trifluoressigsäure/Anisol (90/10) 24 Stunden bei Raumtemperatur abgespalten. Die Lösung wurde im Vakuum eingeengt, der Rückstand mit Ether digeriert und getrocknet. Das Rohpeptid wurde über eine Dynamax C18, 3 µ-Säule (10 x 2,14 cm) unter Verwendung eines Gradienten aus A: Wasser/Acetonitril/ Trifluoressigsäure 95/5/0.2 und B: dito 20/80/0,2 von 5%B auf 80%B in 11 Minuten, Fluß 20 ml , Retentionszeit 7,80 Minuten, gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde ein amorphes farbloses Pulver erhalten.
FAB-MS (M+H)+ = 1327,9

Beispiel 35

ßAla-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der

beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 3,25 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1156.7

Beispiel 36

Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie- Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 3,70 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1198.8

Beispiel 37

Aund-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aund-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-B edingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 5,55 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1268.9

Beispiel 38

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 4,90 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1346.2

Beispiel 39

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 4,50 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1304.0

Beispiel 40

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,10 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1275.0

Beispiel 41

ßAla-Phe-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und Fmoc-Ser (Bzl)-OH statt Fmoc-Cha-OH und Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 6,20 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1305.0

Beispiel 42

Aca-Phe-Lys-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und Fmoc-Lys(BOC)-OH ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,60 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1318.2

Beispiel 43

Aca-Phe-Lys-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,40 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1290.2

Beispiel 44

Aca-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,35 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1352.2

Beispiel 45

Aca-D-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und Fmoc-D-Phe-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,35 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1346.2

Beispiel 46

Aca-Cha-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,35 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1352.0

Beispiel 47

ßAla-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,90 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1309.5

Beispiel 48

ßAla-(4-NO2)Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-(4-NO2)Phe-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 6,85 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1348.9

Beispiel 49

ßAla-Phe-Lys-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 6,75 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1281.9

Beispiel 50

Clg-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Clg-OH statt Fmoc-ßAla-OH und FmocIle-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,35 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1259.8

Beispiel 51

ßAla-(4-NO2)Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-(4-NO2)Phe-OH statt Fmoc-Phe-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 6,50 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1354.7

Beispiel 52

ßAla-Tyr(Bzl)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Tyr(Bzl)-OH statt Fmoc-Phe-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das

unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 8,20 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1415.9

Beispiel 53

ßAla-Tyr-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Tyr(tBu)-OH statt Fmoc-Phe-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 6,45 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1325.8

Beispiel 54

Thc-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Thc-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 6,45 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1279.7

Beispiel 55

ßAla-Phe-Ctr-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Ctr-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 7,00 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1310.6

Beispiel 56

Thc-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Thc-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 7,60 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1426.7

Beispiel 57

Clg-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Clg-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid

erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 8,90 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1406.7

Beispiel 58

Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,45 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1170.6

Beispiel 59

Aca-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH, Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH und Fmoc-Ser(Bzl)-OH statt Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,70 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1200.5

Beispiel 60

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Arg-Ile

Unter zusätzlicher Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH und Fmoc-Asp(tBu)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,10 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1089.5

Beispiel 61

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH und Fmoc-Asp(tBu)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,90 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1160.6

Beispiel 62

Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,95 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1055.7

Beispiel 63

ßAla-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH und Fmoc-Asp(tBu)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,90 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1013.6

Beispiel 64

ßAla-Phe-Gly-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und Fmoc-Ser(Bzl)-OH und Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,85 min) gereinigt wurde. FAB-MS (M+H)+ = 1206.4

Beispiel 65

Aca-Phe-Gly-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH und Fmoc-Lys(BOC)-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,40 min) gereinigt wurde. FAB-MS (M+H)+ = 1248.5

Beispiel 66

ßAla-Gly-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Lys(BOC)-OH und Fmoc-Ser(Bzl)-OH statt Fmoc-Phe-OH und Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-

Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,80 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1059.4

Beispiel 67

Aca-Gly-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH, Fmoc-Ser (Bzl)-OH statt Fmoc-Cha und Fmoc-Nle-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,20 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1101.5

Beispiel 68

ßAla-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ser(Bzl)-OH statt Fmoc-Cha-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und zusätzlich Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,05 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1002.6

Beispiel 69

Aca-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH, Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und Fmoc-Ser(Bzl)-OH statt Fmoc-Cha-OH und Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,60 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1044.5

Beispiel 70

Btu-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Btu-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,35 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1225.6

Beispiel 71

D-Btu-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-D-Btu-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid

erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,15 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1225.6

Beispiel 72

ßAla-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH und Fmoc-Asp(tBu)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,15 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1041.5

Beispiel 73

Aca-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH und Fmoc-Asp(tBu)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,10 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1083.9

Beispiel 74

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Gly-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-βAla-OH, Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und Fmoc-Gly-OH statt Fmoc-Asp(tBu)-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,80 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1331.2

Beispiel 75

Aca-Phe-Arg-Tyr(OMe)-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Tyr(OMe)-OH und Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-βAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,85 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1376.2

Beispiel 76

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-D-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-βAla-OH und Fmoc-D-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid

erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,10 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1346.0

Beispiel 77

Aca-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-D-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-D-Asp(tBu)-OH statt Fmoc-Asp(tBu)-OH, Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,60 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1346.0

Beispiel 78

Aca-Phe-D-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-D-Arg(Mtr)-OH und Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6.65 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1346.0

Beispiel 79

Aca-D-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-D-Phe-OH und Fmoc-Aca-OH statt Fmoc-ßAla-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,55 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1346.0

Beispiel 80

Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH und Fmoc-Aca-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,55 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1232.5

Beispiel 81

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-D-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-D-Arg(Mtr)-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das

unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,15 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1303.7

Beispiel 82

ßAla-Phe-D-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-D-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-D-Arg(Mtr)-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,05 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1346.0

Beispiel 83

Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH und Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,45 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1085.5

Beispiel 84

ßAla-Phe-D-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-D-Arg(Mtr)-OH statt Fmoc-Arg(Mtr)-OH und von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-Cha-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,40 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1303.7

Beispiel 85

ßAla-Phe-Arg-Cha-Azt-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Azt-OH statt Fmoc-D-Ala-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 7,20 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1321.7

Beispiel 86

ßAla-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen

Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 6,35 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1162.5

Beispiel 87

Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 6,10 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1091.5

Beispiel 88

Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Met-OH und ohne Fmoc-ßAla-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 8,25 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1238.8

Beispiel 89

H-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile-

Die Peptidsynthese erfolgte mit einem Peptidsynthesizer ACT200 der Firma Advanced ChemTech unter Verwendung der Fmoc-Strategie unter Verwendung eines modifizierten Steuerprogramms. Der 50ml- Schüttelreaktor wurde mit 1g 2-Methoxybenzylester-Harz der Firma Bachem, Schweiz, das mit 0.5 mmol Fmoc-Isoleucin beladen war, beschickt. Folgende Aminosäure-Derivate wurden verwendet: Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH, Fmoc-Nle-OH, Fmoc-Lys(BOC)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-D-Ala-OH, Fmoc-Phe-OH und BOC-Lys(Fmoc)-OH. Die Kupplungen wurden unter Verwendung von jeweils 3 Äquivalenten Fmoc-Aminosäure, 1-Hydroxybenzotriazol und Dicyclohexylcarbodiimid durchgeführt (Kupplungszeit 40 Minuten). Nach Durchführung des TNBS-Tests wurde bei nicht-vollständiger Acylierung die Kupplung unter Verwendung der gleichen Reagenzien und Überschüsse wiederholt. Bei vollständiger Acylierung wurde der nächste Synthesecyclus gestartet. Die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppen wurde jeweils mit 20% Piperidin in DMF (einmal 3 Minuten, einmal 15 Minuten) durchgeführt.

Zwischen den Reaktionen wurde das Harz jeweils 10mal mit DMF gewaschen. Nach Aufbau der linearen Sequenz BOC-Lys-Arg(Mtr)-Phe-D-Ala-Gly-Lys(BOC)-Nle-Asp(tBu)-Arg(Mtr)-Ile- am polymeren Träger wurde das Harz gründlich mit Dichlormethan gewaschen und anschließend 5mal mit jeweils 20 ml einer 1%igen Lösung von Trifluoressigsäure in Dichlormethan maximal 10 Minuten bei Raumtemperatur behandelt (bis zur intensiven lila-Färbung des Harzes). Die Lösungen wurden vereinigt und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird mit Ether verrieben, der Ether abdekantiert, das Peptid im Stickstoffstrom getrocknet und in 130ml DMF aufgenommen, der pH-Wert auf ca.8,5 mit Triethylamin eingestellt, die Lösung auf -20°C abgekühlt und 0.2g (0,75 mmol) Diphenylphosphorylazid zugegeben. Es wurde 48 Stunden bei -20°C, 48 Stunden bei 4°C stehengelassen. Der pH-Wert wurde mit Triethylamin auf 8,5 gehalten. Danach wurde DMF im Vakuum entfernt, der Rückstand zweimal mit Ether verrieben, der Ether abdekantiert und der Rückstand mit einem Stickstoffstrom getrocknet. Die Seitenkettenschutzgruppen wurden mit Trifluoressigsäure/Anisol (90/10) 24 Stunden bei Raumtemperatur abgespalten. Die Lösung wurde im Vakuum eingeengt, der Rückstand mit Ether digeriert und getrocknet. Das Rohpeptid wurde über eine Dynamax C18, 3µ-Säule (10 x 2,14 cm) unter Verwendung eines Gradienten aus A: Wasser/Acetonitril/ Trifluoressigsäure 95/5/0.2 und B: dito 20/80/0,2 von 5% B auf 80% B in 11 Minuten, Fluß 20ml , Retentionszeit 5,25 Minuten gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde ein amorphes farbloses Pulver erhalten.

FAB-MS (M+H) + = 1186,0

Beispiel 90

Z-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Z-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,60 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1320.0

Beispiel 91

Z-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Z-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH und Fmoc-Ser(Bzl)-OH statt Fmoc-Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,95 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1350.0

Beispiel 92

Bz-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Bz-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der

beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,00 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1290.0

Beispiel 93

Z-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Z-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH und ohne Fmoc-Nle-OH und Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,65 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1348.0

Beispiel 94

H-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Cha-OH statt Fmoc-Phe-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und ohne Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,00 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1219.7

Beispiel 95

Z-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Z-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH, Fmoc-Cha-OH statt Fmoc-Phe-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und ohne Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,35 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1353.7

Beispiel 96

Menoc-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Menoc-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und ohne Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 8,20 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1395.8

Beispiel 97

Menoc-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Menoc-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH Fmoc-Cha-OH statt Fmoc-Phe-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und ohne Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (20% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,00 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1402.0

Beispiel 98

H-Lys-Lys-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und Fmoc-Cha-OH statt Fmoc-Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,40 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H) + = 1191.8

Beispiel 99

Z-Lys-Lys-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Z-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH und und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,75 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1326.0

Beispiel 100

Z-Lys-Phe-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Z-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 8,40 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1339.0

Beispiel 101

(4-NO_2)Z-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von (4-NO_2)Z-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH, Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und Fmoc-Cha-OH statt Fmoc-Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 8,45 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1398.9

Beispiel 102

Z-Lys-Orn-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Z-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH, Fmoc-Cha-OH statt Fmoc-Phe-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und zusätzlich Fmoc-Orn(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 7,80 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1311.8

Beispiel 103

H-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Ser(Bzl)-OH statt Fmoc-Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 5,55 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1216.0

Beispiel 104

Bz-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Bz-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,40 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1290.0

Beispiel 105

Bz-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Bz-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH und Fmoc-Ser(Bzl)-OH statt Fmoc-Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,35 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1319.7

Beispiel 106

Bz-D-Lys-Arg-Ser(Bzl)-D-Ala-Gly-Lys-Nle-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Bz-D-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH und Fmoc-Ser(Bzl)-OH statt Fmoc-Phe-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,70 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1319.8

Beispiel 107

Tos-Lys-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Tos-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,90 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1367.7

Beispiel 108

H-Lys-Arg-Phe-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Fmoc-Clg-OH statt Fmoc-Gly-OH und statt Fmoc-D-Ala-OH und von Fmoc-Ile-OH statt

Fmoc-Nle-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 4,85 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1253.8

Beispiel 109

Z-Lys-Arg-Phe-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Z-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH, von Fmoc-Clg-OH statt Fmoc-Gly-OH und Fmoc-D-Ala-OH und von Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und Ohne Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 6,85 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1387.8

Beispiel 110

Z-Lys-Arg-Cha-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Z-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH, Fmoc- Cha-OH statt Fmoc-Phe-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und Fmoc-Clg-OH statt Fmoc-Gly-OH und statt Fmoc-D-Ala-OH und ohne Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 11 min, Retentionszeit 8,70 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1394.0

Beispiel 111

Z-Lys-Arg-Cha-D-Clg-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Z-Lys(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH, Fmoc- Cha-OH statt Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Clg-OH statt Fmoc-Gly-OH und Fmoc- D-Ala-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und ohne Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 9.80 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1393.9

Beispiel 112

H-Dap-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von BOC-Dap(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und ohne Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 6,85 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1177.5

Beispiel 113

Z-Dap-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von Z-Dap(Fmoc)-OH statt BOC-Lys(Fmoc)-OH, Fmoc- Cha-OH statt Fmoc-Phe-OH und Fmoc-Ile-OH statt Fmoc-Nle-OH und Ohne Fmoc-Lys(BOC)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (5% nach 80% B in 10 min, Retentionszeit 8,10 min) gereinigt wurde.
FAB-MS (M+H)+ = 1311.6

Analog wurden hergestellt:

(4-NO_2)Z-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Met-Asp-Arg-Ile

Reinigung unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (10% nach 90% B in 10 min, Retentionszeit 7,4 min) FAB-MS (M+H)+ = 1417.0

(4-NO_2)Z-Lys-Orn-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Reinigung unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (10% nach 90% B in 10 min, Retentionszeit 7,8 min) FAB-MS (M+H)+ = 1356.6

Beispiel 114

2-Pyridylacetyl-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-

Die Peptidsynthese erfolgte mit einem Peptidsynthesizer ACT200 der Firma Advanced ChemTech unter Verwendung der Fmoc-Strategie unter Verwendung eines modifizierten Steuerprogramms. Der 50ml- Schüttelreaktor wurde mit 1g 2-Methoxybenzylester-Harz der Firma Bachem, Schweiz, das mit 0.5 mmol Fmoc-Isoleucin beladen war, beschickt. Folgende Aminosäure-Derivate wurden verwendet: Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-D-Ala-OH, Fmoc-Cha-OH und 2-Pyridylacetyl-Lys(Fmoc)-OH. Die Kupplungen wurden unter Verwendung von jeweils 3 Äquivalenten Fmoc-Aminosäure, 1-Hydroxybenzotriazol und Dicyclohexylcarbodiimid durchgeführt (Kupplungszeit 40 Minuten). Nach Durchführung des TNBS-Tests wurde bei nicht-vollständiger Acylierung die Kupplung unter Verwendung der gleichen Reagenzien und Überschüsse wiederholt. Bei vollständiger Acylierung wurde der nächste Synthesecyclus gestartet. Die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppen wurde jeweils mit 20% Piperidin in DMF (einmal 3 Minuten, einmal 15 Minuten) durchgeführt.

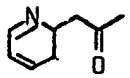
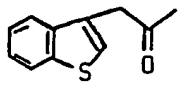
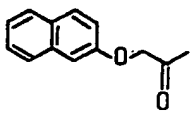
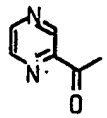
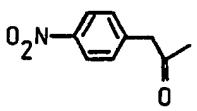
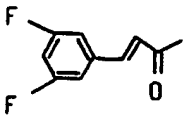
Zwischen den Reaktionen wurde das Harz jeweils 10mal mit DMF gewaschen. Nach Aufbau der linearen Sequenz 2-Pyridylacetyl-Lys-Arg(Mtr)-Cha-D-Ala-Gly-Arg(Mtr)-Ile-Asp(tBu)-Arg(Mtr)-Ile- am polymeren Träger wurde das Harz gründlich mit Dichlormethan gewaschen und anschließend 5mal mit jeweils 20 ml einer 1%igen Lösung von Trifluoressigsäure in Dichlormethan maximal 10 Minuten bei Raumtemperatur behandelt (bis zur intensiven lila-Färbung des Harzes). Die Lösungen wurden vereinigt und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird mit Ether verrieben, der Ether abdekantiert, das Peptid im Stickstoffstrom getrocknet und in 130ml DMF aufgenommen, der pH-Wert auf ca.8,5 mit Triethylamin eingestellt, die Lösung auf -20°C abgekühlt und 0.2g (0,75 mmol) Diphenylphosphorylazid zugegeben. Es wurde 48 Stunden bei -20°C, 48 Stunden bei 4°C stehengelassen. Der pH-Wert wurde mit Triethylamin auf 8,5 gehalten. Danach wurde DMF im Vakuum entfernt, der Rückstand zweimal mit Ether verrieben, der Ether abdekantiert und der Rückstand mit einem Stickstoffstrom getrocknet. Die Seitenkettenschutzgruppen wurden mit Trifluoressigsäure/Anisol (90/10) 24 Stunden bei Raumtemperatur abgespalten. Die Lösung wurde im Vakuum eingeengt, der Rückstand mit Ether digeriert und getrocknet. Das Rohpeptid wurde über eine Dynamax C18, 3µ-Säule (10 x 2,14 cm) unter Verwendung eines Gradienten aus A: Wasser/Acetonitril/ Trifluoressigsäure 95/5/0.2 und B: dito 20/80/0,2 von 10% B auf 90% B in 11 Minuten, Fluß 10ml/min, Retentionszeit 8,2 Minuten gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde ein amorphes farbloses Pulver erhalten.

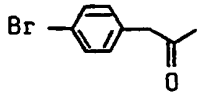
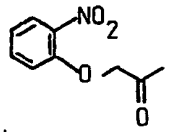
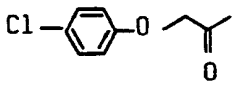
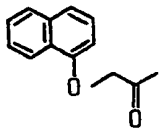
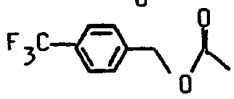
FAB-MS (M+H) + = 1338,6

Beispiele 115 bis 124

X-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

Unter Verwendung von X-Lys(Fmoc)-OH statt 2-Pyridylacetyl-Lys(Fmoc)-OH wurde wie in Beispiel 1 beschrieben ein Rohpeptid erhalten, das unter Verwendung der beschriebenen Chromatographie-Bedingungen (10% auf 90% B in 11 min, Retentionszeit siehe folgende Tabelle) gereinigt wurde.

Beispiel Nr.	X	Retentions-zeit [min]	FAB-MS(M+H)
114		8,2	1338,6
115		9,5	1393,7
116		9,9	1403,6
117		6,7	1325,8
118		8,3	1382,8
119		8,7	1385,8

Beispiel Nr.	X	Retentions-zeit [min]	FAB-MS(M+H)
120		7,8	1415,7 (1417,7) 1 Br
121		7,6	1398,8
122		8,0	1388
123		8,1	1404
124 (1)		7,5	1422

(1): Abweichung von der Reinigung nach Beispiel 1: 10 % B auf 90 % B in 10 Minuten, Fluß 10 ml/min.

ERSATZBLATT

Gel (für transdermale Verabreichung, besonders verbunden mit Iontophorese)

10 %	Wirksubstanz der allgemeinen Formel I in Citratpuffer pH 4,1 (Zusammensetzung siehe unten)
0,25 %	Agarose

Zusammensetzung Citratpuffer pH 4,1

10,5 g	Citronensäure - Monohydrat	Lösung I
100,0 ml	Natronlauge 1 mol/l	
ad 500,0 ml	destilliertes Wasser	
100,0 ml	Salzsäure 0,1 mol/l	Lösung II
ad 250,0 ml	Lösung I	

Die obige Lösung wird auf ca. 60°C unter Rühren erwärmt und nach Auflösung aller Agaroseteilchen auf Zimmertemperatur erkalten gelassen.

Injektionslösung:

10,5 g	$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	Puffer
95,5 g	$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	pH 7,4
22,0 g	NaCl	
ad 5.000 ml	destilliertes Wasser	

Diese Pufferlösung wird 30 Miuten bei 121°C und 1 atü autoklaviert.

1,5 g Wirksubstanz der allgemeinen Formel I werden zu dieser Lösung eingewogen und die gesamte Lösung wird steril filtriert.

In diesen Zubereitungsbeispielen kann z.B. die Verbindung

$(4\text{-}NO_2)$Z-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

oder eine der anderen oben angeführten Verbindungen eingesetzt werden.

Patentansprüche

1. Cyclopeptide der allgemeinen Formel I mit ANP agonistischer Wirkung,

$$\text{An-Bn-Cn-Dn-En-Fn-Gn-Hn-In-Kn} \qquad \text{(I)}$$

worin die Folge der Glieder Bn bis Kn die Folge von Aminosäureresten des hANP Arg(27)-Phe(8)-Gly(9)-Gly(10)-Arg(11)-Met(12)-Asp(13)-Arg(14)-Ile(15)- oder deren raumstrukturellen und funktionellen Äquivalenten ist und An eine Spacergruppe ist, die Bn mit Kn verbindet und die Raumstruktur des jeweiligen Moleküls dahingehend beeinflußt, daß die Cyclopeptide an ANP Rezeptoren binden, und deren pharmazeutisch annehmbare Salze.

2. Cyclopeptide nach Anspruch 1, worin die Spacergruppe An in dem dem Glied Bn zunächstliegenden Teil einen aromatischen oder cycloaliphatischen Rest enthält.

3. Cyclopeptide nach Anspruch 1 oder 2, worin die Glieder Bn, Cn, En, Fn, Gn, Hn, In und Kn in der L-Form vorliegen.

4. Cyclopeptid nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin

Bn ein α-Aminosäurerest mit ein oder 2 Seitenketten ist, worin die Seitenkette(n) oder eine der beiden Seitenketten eine, zwei, drei oder vier basische Gruppe(n) enthält (enthalten);

Cn ein α-Aminosäurerest mit ein oder zwei gewünschtenfalls -O- , -S- oder -C(O)O- enthaltende(n) Alkylseitenketten ist, wobei die Seitenkette(n) oder eine der beiden Seitenketten einen Rest oder zwei Reste trägt (tragen), wobei der jeweilige Rest Cycloalkyl mit 3 bis 10 Kohlenstoffatomen, Phenyl, Naphthyl, substituiertes (z.B. Hydroxy, Phenyl(C_1-C_4)alkyloxy, (C_1-C_4)alkoxy, NO_2) Phenyl oder ein 5- oder 6-gliedriger aromatischer Heterocyclus ist, worin 2 Glieder N sind oder ein Glied N und ein Glied O oder S ist, oder ein Glied N, S oder O ist und die übrigen Glieder C sind, vorzugsweise Thienyl, Furyl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Pyrazolyl, Pyridyl, Pyrazinyl, Pyrimidinyl, Pyridazinyl, Indolyl, Isoquinolyl, Quinolyl, Chromanyl, Thiazolyl, Oxazolyl, Morpholinyl;

Dn und En
unabhängig voneinander je Gly oder ein α-Aminosäurerest sind, der die Raumstruktur der nativen Aminosäure Gly nachahmt, oder

Dn und En
gemeinsam ein ω-Aminosäurerest $-NH-(CH_2)_{2-11}-CO-$ oder ein Peptidtemplat sind;

Fn ein α-Aminosäurerest mit ein oder 2 Seitenketten ist, worin die Seitenkette(n) oder eine der beiden Seitenketten eine, zwei, drei oder vier basische Gruppe(n) enthält (enthalten);

Gn ein α-Aminosäurerest mit ein oder zwei lipophilen Seitenketten ist;

Hn Gly oder ein α-Aminosäurerest ist, der in der (den) Seitenkette(n) keine funktionelle Gruppe oder -COOH oder $-CONH_2$ als funktionelle Gruppe enthält;

In ein α-Aminosäurerest mit ein oder 2 Seitenketten ist, worin die Seitenkette(n) oder eine der beiden Seitenketten eine, zwei, drei oder vier basische Gruppe(n) enthält (enthalten);

Kn ein α-Aminosäurerest mit ein oder zwei lipophilen Seitenketten ist.

5. Cyclopeptid nach Anspruch 4, worin

Bn, Fn und In unabhängig von einander einen α-Aminosäurerest mit einer Seitenkette bedeuten, worin die Seitenkette eine oder zwei basische Gruppe(n) enthält;

Cn ein α-Aminosäurerest mit einer Seitenkette ist;

Dn und En unabhängig wie in Anspruch 4 definiert sind oder
Dn und En gemeinsam einen ω-Aminosäurerest $-NH-(CH_2)_{2-5}-CO-$ oder ein Peptidtemplat bedeuten;

Gn und Kn unabhängig voneinander einen α-Aminosäurerest mit einer lipophilen Seitenkette bedeuten, wobei die Seitenkette (C_1-C_6)Alkyl ist, das auch ein oder zwei -S- oder -O- in der Kette enthalten kann;

Hn Gly oder ein α-Aminosäurerest ist, dessen Seitenkette (C_1-C_6)Alkyl, Phenyl-(C_1-C_6)-Alkyl, $H_2N-CO-(CH_2)_{1-4}-$ oder $HOOC-(CH_2)_{1-4}-$ ist.

6. Cyclopeptid nach Anspruch 5, worin

Bn, Fn und In unabhängig voneinander Arg, D-Arg, Lys, D-Lys, Orn, D-Orn, Homo-Arg, D-Homo-Arg, Dap, D-Dap oder 4-Amino-Phe, sind, vorzugsweise Arg, D-Arg, Lys, D-Lys oder Orn;

Cn Phe, D-Phe, 4-NO_2-Phe, Cha, D-Cha, Ser(Bzl), D-Ser(Bzl), Tyr, D-Tyr, Tyr(Bzl), D-Tyr(Bzl), Nal, D-Nal, Thi, D-Thi, Asp(Bzl), D-Asp(Bzl), His, D-His, Glu(Bzl) oder D-Glu(Bzl) ist, vorzugsweise Phe, Cha, Tyr, Nal, Tyr(Bzl) oder (4-NO_2)-Phe;

Dn und En unabhängig voneinander Ala, Gly, Pro, Ser, Asn, Lys, Asp oder Thr oder ihre D-Form sind, vorzugsweise Dn D-Ala, Gly, Pro, D-Pro, Ser oder D-Ser;

En Gly, Asp oder Asn ist; oder

Dn und En gemeinsam ein ω-Aminosäurerest der Formel -NH-$(CH_2)_{2-5}$-CO- oder ein Peptidtemplat sind, vorzugsweise Btu, Clg, Thc oder Trc oder ihre D-Formen, insbesondere D-Btu sind;

Gn und Kn unabhängig voneinander Ile, D-Ile, Met, D-Met, Nle, D-Nle, Leu, D-Leu, Val oder D-Val sind, vorzugsweise Ile, Met, Nle oder Leu sind;

Hn HOOC-$(CH_2)_{1-4}$-CH(NH-)-CO-, deren D-Formen, Gly, Ala, D-Ala, Asn, D-Asn, Phe oder D-Phe ist, vorzugsweise Asp, Glu oder Gly ist.

7. Cyclopeptid nach einem der Ansprüche 1 bis 6, worin An

a) die Gruppe -A_1 - A_2 - A_3 - ist, worin

A_1 Gly oder ein α-Aminosäurerest ist, dessen Seitenkette(n) keine funktionelle Gruppe trägt (tragen);

A_2 eine kovalente Bindung oder ein ω-Aminosäurerest der Formel

$$- NH - (CH_2)_n - CO - \qquad (II)$$

ist, worin n eine ganze Zahl von 1 bis 11 ist;

An ein α-Aminosäurerest mit ein oder zwei gewünschtenfalls -O- , -S- oder -C(O)O- enthaltende(n) Alkylseitenketten ist, wobei die Seitenkette(n) oder eine der beiden Seitenketten einen Rest oder zwei Reste trägt (tragen), wobei der jeweilige Rest Cycloalkyl mit 3 bis 10 Kohlenstoffatomen, Phenyl, Naphthyl, substituiertes (z.B. Hydroxy, Phenyl(C_1-C_4)alkyloxy, (C_1-C_4)alkoxy, NO_2) Phenyl oder ein 5- oder 6-gliedriger aromatischer Heterocyclus ist, worin 2 Glieder N sind oder ein Glied N und ein Glied O oder S ist, oder ein Glied N, S oder O ist und die übrigen Glieder C sind, vorzugsweise Thienyl, Furyl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Pyrazolyl, Pyridyl, Pyrazinyl, Pyrimidinyl, Pyridazinyl, Indolyl, Isoquinolyl, Quinolyl, Chromanyl, Thiazolyl, Oxazolyl, Morpholinyl;

oder

b) die Gruppe $-A_4 - A_5 -$ ist, worin

A_4 ein Peptidtemplat oder ein ω-Aminosäurerest der Formel

$$- NH - (CH_2)_n - CO - \qquad (II)$$

ist, worin n eine ganze Zahl von 1 bis 11 ist;

A_5 eine kovalente Bindung oder ein α-Aminosäurerest mit ein oder zwei gewünschtenfalls -O- , -S- oder -C(O)O- enthaltende(n) Alkylseitenkette(n) ist, wobei die Seitenkette(n) oder eine der beiden Seitenketten einen Rest oder zwei Reste trägt (tragen), wobei der jeweilige Rest Cycloalkyl mit 3 bis 10 Kohlenstoffatomen, Phenyl, Naphthyl, substituiertes (z.B. Hydroxy, Phenyl(C_1-C_4)alkyloxy, (C_1-C_4)alkoxy, NO_2) Phenyl oder ein 5- oder 6-gliedriger aromatischer Heterocyclus ist, worin 2 Glieder N sind oder ein Glied N und ein Glied O oder S ist, oder ein Glied N, S oder O ist und die übrigen Glieder C sind, vorzugsweise Thienyl, Furyl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Pyrazolyl, Pyridyl, Pyrazinyl, Pyrimidinyl, Pyridazinyl, Indolyl, Isoquinolyl, Quinolyl, Chromanyl, Thiazolyl, Oxazolyl, Morpholinyl;

oder

c) ein Aminosäurerest der Formel III $-NH-(CH_2)_m-CH(R)-CO-$ (III) ist worin m eine ganze Zahl von 1 bis 11 ist und R NHX, OX, SX, NXY, $-NH(H)-C(O)-CH_2-X^1$, $-N(H)-C(O)-CH_2-O-X^1$, $-N(H)-C(O)-X^1$, $-N(H)-C(O)-CH=CH-X^1$ oder $-N(H)-C(O)-O-CH_2-X^1$ ist,

worin

X für Wasserstoff, einen unsubstituierten oder substituierten Benzoylrest, einen unsubstituierten oder substituierten Cyclohexyloxycarbonylrest, einen

unsubstituierten oder substituierten Benzyloxycarbonylrest, einen 2-, 3- oder 4-Pyridylmethyloxycarbonylrest oder einen Tosylrest steht,
Y für einen C1 bis C14-Alkylrest oder Aryl-(C1 bis C14-Alkyl)rest steht und

X^1 (α)Phenyl, (ß) durch 1, 2 oder 3 Substituenten (Substituent(en): Halogen, Trifluormethyl oder Nitro) substituiertes Phenyl, (γ) Naphthyl, (δ) Benzo[b]thienyl, (ε) Pyridyl oder (n) Pyrazinyl ist.

8. Cyclopeptid nach Anspruch 7, worin An

a) die $-A_1-A_2-A_3-$ ist, worin A_1 ein α-Aminosäurerest mit einer (C_1-C_6)Alkylseitenkette ist;
A_2 ein ω-Aminosäurerest der Formel II ist, worin n eine ganze Zahl von 1 bis 6 ist;
A_3 ein α-Aminosäurerest mit einer Seitenkette ist; oder

b) die Grupe $-A_4-A_5-$ ist, worin A_4 ein ω-Aminosäurerest der Formel II ist, worin n eine ganze Zahl von 1 bis 6 ist;

A_5 ein α-Aminosäurerest mit einer Seitenkette ist; oder

c) ein Aminosäurerest der Formel III, worin m 1, 2, 3 oder 4 ist und R -NHX, -NXY, -
-NH(H)-C(O)-CH_2-X^1,
-N(H)-C(O)-CH_2-O-X^1,
-N(H)-C(O)-X^1,
-N(H)-C(O)-CH=CH-X^1 oder
-N(H)-C(O)-O-CH_2-X^1.

9. Cyclopeptid nach Anspruch 8, worin An

a) die Gruppe -A_1 - A_2 - A_3 - ist, worin

A_1 Ala, Gly, Phe, Val, Ile, Leu oder Nle oder ihre D-Form ist, vorzugsweise Gly, Ala oder D-Ala;

A_2 eine ω-Aminosäurerest der Formel II ist, worin n 2, 3 oder 5 ist;

A_3 Phe, D-Phe, 4-NO_2-Phe, Cha, D-Cha, Ser(Bzl), D-Ser(Bzl), Tyr, D-Tyr, Tyr(Bzl), D-Tyr-(Bzl), Nal, D-Nal, Thi, D-Thi, Asp(Bzl), D-Asp(Bzl), His oder D-His ist, vorzugsweise Phe, Tyr, Cha, Nal oder (4-NO_2)Phe;

oder

b) die Gruppe -A_4 - A_5 - ist, worin A_4 ein ω-Aminosäurerest der Formel II ist, worin n 2, 3 oder 5 ist;

A_5Phe, D-Phe, 4-NO_2-Phe, Cha, D-Cha, Ser(Bzl), D-Ser(Bzl), Tyr, D-Tyr, Tyr(Bzl), D-Tyr(Bzl), Nal, D-Nal, Thi, D-Thi, Asp(Bzl), D-Asp(Bzl), His, D-His, Glu(Bzl) oder D-Glu(Bzl) ist, vorzugsweise Phe, Tyr, Cha, Nal oder (4-NO_2)-Phe;

oder

c) ein Aminosäurerest der Formel III, worin m 1, 2, 3 oder 4 ist und R wie in Anspruch 8 definiert ist, worin

X für Wasserstoff, einen unsubstituierten oder durch Chlor, Methoxy oder (C1 bis C3) Alkyl substituierten Benzoylrest, Cyclohexyloxy- oder Menthyloxycarbonylrest, einen unsubstituierten oder durch Methoxy, Nitro, Trifluormethyl oder Cyano substituierten Benzyloxycarbonylrest, steht, vorzugsweise für Benzyloxycarbonyl, 4-Methoxybenzyloxycarbonyl, 2- oder 4-Trifluormethylbenzylcarbonyl oder 4-Nitrobenzyloxycarbonyl, insbesondere für Benzyloxycarbonyl, 4-Nitrobenzyloxycarbonyl oder 2- oder 4-Trilfuormethylbenzyloxycarbonyl,

Y für einen C1 bis C14-Alkylrest oder (C1 bis C14-Alkyl)-Phenylrest steht, vorzugsweise für Benzyl oder Phenylethyl ist;

und

X^1 für Phenyl oder mono- oder di-substituiertes Phenyl, 2-Pyridyl, 2-Pyrazinyl, 3-Benzo[b]thienyl, oder 2-Naphthyl steht.

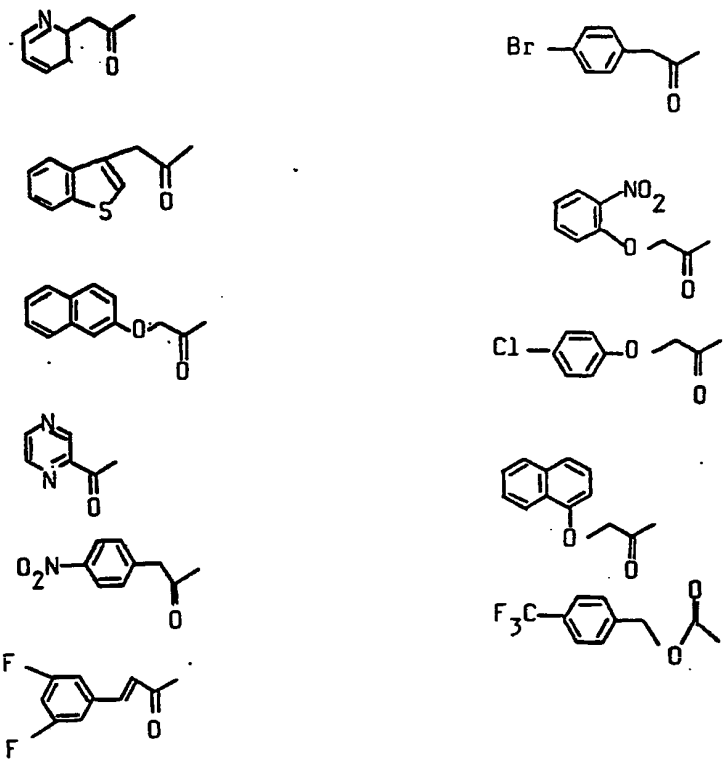
10) Cyclopeptid nach einem der Ansprüche 1 bis 9, worin

An die Gruppe $-A_1 - A_2 - A_3 -$ ist, worin

A_1 Gly ist,
A_2 Aca, ßAla, Apen, Abut, Gly oder eine kovalente Bindung ist, und
A_3 Phe, Phe(4-NO_2), Tyr oder Tyr(Bzl) ist; oder

An die Gruppe $- A_4 - A_5 -$ ist, worin
A_4 ßAla, Aca, Thc, Aund, Btu oder D-Btu ist, und
A_5 eine kovalente Bindung, Phe, D-Phe, Phe(4-NO_2), Tyr, Tyr(Bzl) oder Cha ist; oder

An ein Aminosäurerest der Formel III
$-NH-(CH_2)_m-CH(R)-CO-$ ist, worin m 1 oder 4 ist und R die Gruppe -NHX, worin X H, Z, Bz, Menoc, $(4-NO_2)Z$ oder Tos ist oder An X^2-Lys- ist, worin X^2 eine der folgenden Gruppen ist

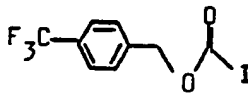


Bn Arg, D-Arg, Lys, Orn, oder Ctr ist;
Cn Cha, Phe, Ser(Bzl), Tyr, Tyr(Bzl) oder Tyr(Me) ist;
Dn D-Ala, Pro oder D-Pro ist;
En Gly ist;
oder
Dn und En gemeinsam L-Clg, D-Clg oder D-Btu sind;

Fn Arg oder Lys ist;
Gn Ile, D-Ile, Nle oder Met ist;
Hn Asp, D-Asp oder Gly ist;
In Arg oder D-Arg ist; und
Kn Ile ist.

11. Cyclopeptid nach Anspruch 10, worin

An -Gly-ßAla-Phe-,
-Gly-ßAla-Tyr(Bzl)-,
-ßAla-Phe,
-ßAla-Phe(4-NO_2)-Lys-,
-(4-NO_2)Z-Lys-,



ist;

Bn Arg, Lys, Ctr oder Orn ist;
Cn Cha oder Phe ist;
Dn D-Ala ist,
En Gly ist;
Fn Arg ist;
Gn Ile oder Met ist;
Hn Asp ist;
In Arg ist und
Kn Ile ist.

12. Cyclopeptid nach Anspruch 1,

ßAla-Phe-Arg-Phe-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Tyr(Bzl)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile-Gly

ßAla-Phe-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe-Lys-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

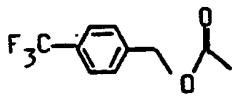
ßAla-Phe(4-NO2)-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

ßAla-Phe-Ctr-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

$(4\text{-}NO_2)$Z-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

X^2-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

worin X^2 ist,



$(4\text{-}NO_2)$Z-Lys-Arg-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Met-Asp-Arg-Ile

$(4\text{-}NO_2)$Z-Lys-Orn-Cha-D-Ala-Gly-Arg-Ile-Asp-Arg-Ile

sowie deren pharmazeutisch annehmbare Salze.

13. Verfahren zur Herstellung eines Cyclopeptides nach einem der Ansprüche 1 bis 12 oder dessen Salzes, dadurch gekennzeichnet, daß man nach in der Peptidchemie bekannten Methoden die lineare Sequenz des Peptides aus den entsprechenden Fragmenten aufbaut und anschließend diese cyclisiert und falls gewünscht, in das entsprechende Salz überführt.

14. Pharmazeutische Zubereitung enthaltend eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 12.

15. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Herstellung eines Antihypertensivums beziehungsweise Hypotensivums.

16. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Herstellung eines Diuretikums.

17. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Herstellung eines Vasodilatators.

18. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Herstellung eines Spasmolytikums.

19. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Herstellung eines Broncholytikums.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP 91/01934

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) [6]

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl.[5] C07K 7/56, 7/64, A61K 37/24

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched [7]

Classification System	Classification Symbols
Int.Cl.[5]	A61K; C07K

Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched [8]

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT [9]

Category [10]	Citation of Document, [11] with indication, where appropriate, of the relevant passages [12]	Relevant to Claim No. [13]
A	WO, A1, 8909611 (CALIFORNIA BIOTECHNOLOGY , INC.) 19 October 1989 see the whole document --	1-19
A	WO, A1, 9000561 (NOVO-NORDISK A/S) 25 January 1990 see the whole document --	1-19
A	EP, A2, 0320967 (BIO-MEGA INC.) 21 June 1989 see the whole document --	1-19

* Special categories of cited documents: [10]

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report
27 January 1992 (27.01.92)	11 February 1992 (11.02.92)
International Searching Authority	**Signature of Authorized Officer**
EUROPEAN PATENT OFFICE	

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO. PCT/EP 91/01934

SA 52181

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 30/11/91
The European Patent office is in no way liable for theseparticulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO-A1- 8909611	19/10/89	AU-D-	3411089	03/11/89
		EP-A-	0410989	06/02/91
		US-A-	4935492	19/06/90
WO-A1- 9000561	25/01/90	AU-D-	3977589	05/02/90
		EP-A-	0350318	10/01/90
EP-A2- 0320967	21/06/89	AU-D-	2682488	22/06/89
		JP-A-	1258698	16/10/89
		US-A-	4891358	02/01/90

For more details about this annex : see Official Journal of the European patent Office, No. 12/82

EPO FORM P0479

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 91/01934

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)[6]

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

Int.Cl.[5] C 07 K 7/56, 7/64, A 61 K 37/24

II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff[7]

Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole
Int.Cl.[5]	A 61 K; C 07 K

Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen[8]

III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN[9]

Art *	Kennzeichnung der Veröffentlichung[11], soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile[12]	Betr. Anspruch Nr.[13]
A	WO, A1, 8909611 (CALIFORNIA BIOTECHNOLOGY, INC.) 19 Oktober 1989, siehe Dokument insgesamt --	1-19
A	WO, A1, 9000561 (NOVO-NORDISK A/S) 25 Januar 1990, siehe Dokument insgesamt --	1-19
A	EP, A2, 0320967 (BIO-MEGA INC.) 21 Juni 1989, siehe Dokument insgesamt --	1-19

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen[10]:

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

IV. BESCHEINIGUNG

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
27. Januar 1992	11. 02. 92
Internationale Recherchenbehörde	**Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten**
Europäisches Patentamt	Nicole De Bie

ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR. PCT/EP 91/01934

SA 52181

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 30/11/91
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO-A1- 8909611	19/10/89	AU-D-	3411089	03/11/89
		EP-A-	0410989	06/02/91
		US-A-	4935492	19/06/90
WO-A1- 9000561	25/01/90	AU-D-	3977589	05/02/90
		EP-A-	0350318	10/01/90
EP-A2- 0320967	21/06/89	AU-D-	2682488	22/06/89
		JP-A-	1258698	16/10/89
		US-A-	4891358	02/01/90

This Page Blank (uspto)